

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**HUILLIAN ZECCHIN**

**EFEITO DA ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA DE BEBIDA DE LEITÕES DESMAMADOS**  
**SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E SANITÁRIO**

**Marechal Cândido Rondon**

**2023**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**HUILLIAN ZECCHIN**

**EFEITO DA ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA DE BEBIDA DE LEITÕES  
DESMAMADOS SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E SANITÁRIO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de concentração em Produção e Nutrição Animal, para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Levi O. Carvalho  
Coorientador: Prof. Dr. Jansller Luiz Genova

**Marechal Cândido Rondon**

**2023**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Zecchin, Huillian

Efeito da acidificação da água de bebida de leitões desmamados sobre o desempenho zootécnico e sanitário / Huillian Zecchin; orientador Paulo Levi Carvalho; coorientador Jansller Luiz Genova. -- Marechal Cândido Rondon, 2023.

88 p.

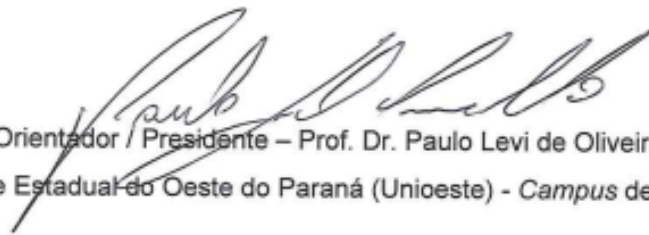
Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2023.

1. Produção animal . 2. Nutrição animal. 3. I. Levi O. Carvalho, Paulo orient.. 4. II. Luiz Gênova, Jansller coorient.. I. Carvalho, Paulo Levi, orient. II. Genova, Jansller Luiz, coorient. III. Título.

## HULLIAN ZECCHIN

### **Efeito da acidificação da água de bebida de leitões desmamados sobre o desempenho zootécnico e sanitário**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de "Mestre em Zootecnia", Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", Linha de Pesquisa "Produção e Nutrição de Não-Ruminantes / Aquicultura, APROVADO pela seguinte Banca Examinadora:

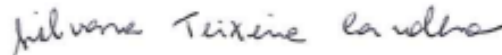


Orientador / Presidente – Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

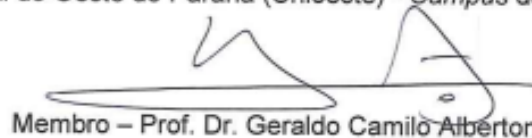
Coorientador – Prof. Dr. Jansller Luiz Genova

Universidade Federal de Viçosa (UFV) – *Participação remota síncrona*



Membro – Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvana Teixeira Carvalho

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Membro – Prof. Dr. Geraldo Camilo Alberton

Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina

Marechal Cândido Rondon, 23 de junho de 2023.



Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA – MESTRADO E DOUTORADO**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO ANIMAL**  
**LINHA DE PESQUISA: PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO DE NÃO-RUMINANTES / AQUICULTURA**

**DECLARAÇÃO DE PARTICIPAÇÃO À DISTÂNCIA EM BANCA EXAMINADORA DE  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO NA  
UNIOESTE – CAMPUS DE MAL. CÂNDIDO RONDON**

Às 14 horas do dia 23/06/2023, participei como COORIENTADOR, de forma remota e síncrona com os demais membros que assinam a ata física deste ato público, da Banca Examinadora de Dissertação de **HUILLIAN ZECCHIN**, discente de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus de Mal. Cândido Rondon*, referente ao trabalho intitulado "**Efeito da acidificação da água de bebida de leitões desmamados sobre o desempenho zootécnico e sanitário**".

Considerando o trabalho avaliado, as arguições de todos os membros da banca e as respostas dadas pelo candidato, formalizo para fins de registro, por meio deste documento, minha decisão de que o candidato pode ser considerado **APROVADO**.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. Jansller Luiz Genova**  
[jansller.genova@ufv.br](mailto:jansller.genova@ufv.br)  
Universidade Federal de Viçosa – UFV  
Departamento de Zootecnia

A Deus e minha família,  
base de tudo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, sempre me protegendo e guiando meus caminhos.

Agradeço a minha família, por todo incentivo e companheirismo durante esse período de estudos.

À Cooperativa Agroindustrial Copagrill, por me oferecer essa oportunidade de aperfeiçoamento profissional, apoiando na busca de novos conhecimentos e desafios e também por contribuir com a realização desse projeto.

Aos professores e colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, do campus Marechal Cândido Rondon, pela oportunidade concedida de desenvolver esse trabalho e por todo conhecimento e aprendizado adquirido ao longo desse período. Faço um agradecimento especial ao professor Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho, professor orientador, sempre presente me motivando e incentivando na realização e conclusão deste trabalho, mesmo diante de todas as dificuldades; e ao professor Dr. Jansller Luiz Genova, por todo auxílio e prestatividade durante o período de realização deste trabalho. Vocês são referências para mim!

À empresa parceira American Nutrients do Brasil Indústria e Comércio Ltda, pelo financiamento do projeto e auxílio e suporte com os equipamentos, análises realizadas e produto testado. Em especial ao senhor Claus André Kettermann e Daiane Carvalho.

A todos os integrantes do Grupo GEPS que me auxiliaram durante as atividades, em especial, Aline Tillmann, Bruna Ladwig e Liliana Bury de Azevedo. Ainda, sem esquecer Thiago Vanderlei Anklan e Rejane B. Anklan, por ceder a granja durante o período de realização do projeto, além de toda ajuda e auxílio.

Por fim, aos animais, por serem a fonte de inspiração de minha carreira profissional. Em especial, à suinocultura, atividade que me inspira a buscar conhecimento a fim de me tornar um profissional cada vez mais qualificado e feliz.

## **EFEITO DA ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA DE BEBIDA DE LEITÕES DESMAMADOS SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E SANITÁRIO**

**RESUMO:** O período de desmame representa uma das fases mais importantes na suinocultura, pois impõe aos leitões desafios como estresse ambiental, nutricional e sanitários. Visando assegurar o fornecimento de água de boa qualidade aos suínos, permitindo, inclusive, a redução da utilização de antibióticos e o controle de desafios entéricos, o objetivo deste estudo foi avaliar o uso de um acidificante, utilizado sob forma contínua via água de bebida, sobre o desempenho zootécnico, saúde intestinal e parâmetros hematológicos de leitões desmamados. Foram utilizados 1080 leitões fêmeas com peso corporal médio de  $6,81 \pm 0,29$  kg, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado constituído por três tratamentos em que: 1) pH<sub>7,39</sub> - pH da água natural em 7,39; 2) pH<sub>5,31</sub> - pH da água de bebida acidificada para 5,31; e 3) pH<sub>3,40</sub> - pH da água de bebida acidificada para 3,40; com oito repetições/tratamento e 45 leitões por baía como a unidade experimental. Em todos os tratamentos a água foi clorada, dentro do range de 0,2 a 5 ppm, conforme as recomendações da Portaria nº 888/2021 do Ministério da Saúde, Brasil. O acidificante utilizado para tratamento da água dos grupos 2 e 3 foi um produto comercialmente disponível e recomendado como aditivo regulador de acidez para água de bebida para não ruminantes. Sua composição é a base de ácido ascórbico (450,00 mg/kg), ácido cítrico (13,00 g/kg), ácido fosfórico (773,50 g/kg), fosfato monossódico (400,00 mg/kg), nucleotídeos e palatilizantes. Os índices zootécnicos, consumo hídrico e o potencial de oxidação/redução da água (ORP) foram avaliados nas fases pré inicial (dia 1 - 9), Inicial I (dia 10 - 15), Inicial II ( dia 16 -30) e período total (do dia 1 - 30) e, ao final do período experimental de 30 dias, foram avaliados morfometria e microbioma intestinais, biometria de órgãos digestórios e não digestórios, gasometria sanguínea e perfil bioquímico e antioxidante sanguíneo em leitões de creche, além da avaliação do potencial de oxirredução da água. O consumo hídrico na fase pré-inicial foi maior conforme a redução do pH da água e na fase inicial II, o grupo sem acidificantes apresentou o maior consumo hídrico médio por animal. Os níveis de ORP foram maiores em acréscimo à quantidade de ácido utilizado. A utilização do produto comercial não influenciou na profundidade das vilosidades/criptas dos leitões que ingeriram água com acidificantes. O peso do estômago, baço e fígado (com vesícula biliar) dos grupos que continham mais acidificantes na água foi maior que o grupo controle, o que favoreceu a mortalidade reduzida e influenciou alguns níveis plasmáticos como alanina



aminotransferase, aspartato aminotransferase e proteínas. O estudo mostrou que os animais que receberam uma dieta hídrica com a utilização de água clorada e acidificada em pH<sub>3,40</sub>, obtiveram maiores grupos de populações bacterianas benéficas ao organismo quando comparados aos demais grupos, prevalecendo a população de *Lactobacillus* e demais bactérias do Filo Firmicutes, e inibiu as da família Enterobacteriaceae, mostrando capacidade de reduzir a carga de *Escherichia* spp. na excreção fecal. Em conclusão, recomenda-se a acidificação da água de bebida em pH<sub>3,40</sub>, para melhorar a saúde intestinal e o perfil sanguíneo, mantendo o desempenho zootécnico satisfatório.

**Palavras-chave:** Aditivo ácido, oxirredução, microbioma intestinal, pH

## **ACIDIFICATION EFFECT OF THE DRINKING WATER OF WEANED PIGLETS ON THE ZOOTECHNICAL AND SANITARY PERFORMANCE**

**ABSTRACT:** The weaning period represents one of the most important stages in pig farming, as it imposes challenges to piglets such as environmental, nutritional and sanitary stress. Aiming to ensure the supply of good quality water to pigs, including reducing the use of antibiotics and controlling enteric challenges, the objective of this study was to evaluate the use of an acidifier used continuously via drinking water on zootechnical performance, intestinal health and hematological parameters of weaned piglets. 1080 female piglets with an average live weight of  $6.81 \pm 0.29$  kg were used, distributed in a completely randomized design consisting of 3 treatments: 1) pH<sub>7.39</sub> - natural water pH at 7.39; 2) pH<sub>5.31</sub> - pH of drinking water acidified to 5.31; and 3) pH<sub>3.40</sub> - pH of drinking water acidified to 3.40; with 8 pens replicates and 45 piglets per pen as the experimental unit. In all treatments the water was chlorinated, within the range of 0.2 to 5 ppm, following the recommendations of Ordinance 888 of 2021 of the Ministry of Health, Brazil. The acidifier used for water treatment in groups 2 and 3 was a commercially available product and recommended as an acidity-regulating additive for drinking water for monogastrics. Its composition is based on ascorbic acid (450.00 mg/kg), citric acid (13.00 g/kg), phosphoric acid (773.50 g/kg) and monosodium phosphate (400.00 mg/kg), nucleotides and palatability agents. The zootechnical indices, water consumption and the oxidation/reduction potential of water were evaluated in the pre-initial phases (from day 1 - 9), Initial I (from day 10-15), Initial II (from day 16 - 30) and total period (from day 1-30), and at the end of the experimental period from 30 days, zootechnical indices, intestinal morphometry and microbiome, biometry of digestive and non-digestive organs, blood gasometry and biochemical profile and blood antioxidant in nursery piglets were evaluated, in addition to the evaluation of the potential of redox of water. The water consumption in the pre-initial phase was higher as the pH of the water decreased and in the initial phase II, the group without acidifiers had the highest average water consumption per animal. The oxidation/reduction (ORP) levels were higher in addition to the amount of acid used. The use of the commercial product did not influence the depth of the villus/crypts in piglets that ingested water with acidifiers. The weight of the stomach, spleen and liver (with gallbladder) of the groups that contained more acidifiers in the water were heavier than the control group, which favored the reduced mortality and influenced some plasmatic levels such as alanine aminotransferase,

aspartate aminotransferase and proteins. The study has shown that the animals which received a water diet with the use of chlorinated and acidified water at pH<sub>3.40</sub>, obtained larger groups of bacterial populations beneficial to the organism when compared to the other groups, which favored beneficial bacteria prevailing the population of *Lactobacillus* and other bacteria of the Phylum Firmicutes, and inhibited those of the Enterobacteriaceas, showing ability to reduce the load of *Escherichia* spp. in fecal excretion. In conclusion, it has been recommended the acidification of drinking water at pH 3.40, in order to improve the blood profile and intestinal health, maintaining satisfactory zootechnical performance.

**Keywords:** Acid additives, redox, intestinal microbiome, pH

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Efeito de acidificantes na água de bebida de leitões em fase de creche sobre o perfil enzimático sanguíneo: a) Glutaciona peroxidase; b) Superóxido dismutase; c) Proteína total ( $n = 16$  leitões por tratamento). .....67
- Figura 2.** Diversidade alfa, estimada pelos parâmetros Entropia de Shannon (A), Evenness Pielou (B), Índice de Simpson (C), Fisher (D), número total de OTUs observado (E) e Chao1 (F) ( $n = 15$  leitões por tratamento).....71
- Figura 3.** Diversidade beta, estimada pelos parâmetros Bray-Curtis (A), Jaccard (B), Unifrac (C) e Weighted Unifrac (D) ( $n = 15$  leitões por tratamento). .....72
- Figura 4.** Abundância relativa dos filos de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida. ....73
- Figura 5.** Razões Firmicutes/Bacteroidota (F/B) de acordo com os tratamentos (grupos) testados ( $n = 15$  leitões por tratamento). .....74
- Figura 6.** Abundância relativa das classes de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida. ....75
- Figura 7.** Abundância relativa das ordens de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida. ....76
- Figura 8.** Abundância relativa das famílias de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida.....77
- Figura 9.** Abundância relativa dos gêneros de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida.....78

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Uso de acidificantes na dieta de leitões. ....	26
<b>Tabela 2.</b> Composição das dietas comerciais fornecidas aos leitões de creche (como base alimentada, g/kg). ....	52
<b>Tabela 3.</b> Efeito de acidificantes na água de bebida sobre o potencial de oxidação/redução (ORP) da água e consumo hídrico diário de leitões em fase de creche ( $n = 8$ repetições de baias por tratamento). ....	60
<b>Tabela 4.</b> Efeito de acidificantes na água de bebida sobre o desempenho zootécnico e mortalidade de leitões em fase de creche ( $n = 8$ repetições de baias por tratamento). ...	62
<b>Tabela 5.</b> Efeito de acidificantes na água de bebida sobre o perfil bioquímico sanguíneo de leitões em fase de creche no dia 29 ( $n = 24$ leitões por tratamento). ....	64
<b>Tabela 6.</b> Efeito de acidificantes na água de bebida sobre a gasometria sanguínea de leitões em fase de creche no dia 29 ( $n = 8$ leitões por tratamento). ....	65
<b>Tabela 7.</b> Efeito de acidificantes na água de bebida sobre a morfometria intestinal de leitões em fase de creche no dia 30 ( $n = 7$ leitões por tratamento). ....	69
<b>Tabela 8.</b> Efeito de acidificantes na água de bebida sobre o comprimento do intestino delgado e peso de órgãos digestórios e não digestórios de leitões em fase de creche no dia 30 ( $n = 15$ leitões por tratamento). ....	70

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG – Ânion Gap

ALBM – Albumina

ALT – Alanina aminotransferase

ANOVA – Análise de variância

AST – Aspartato aminotransferase

ASV's – Variantes de sequências de amplicons

AV – Altura de vilosidades

BAL – Bactérias ácido lácticas

BE – Balanço eletrolítico

CA – Conversão alimentar

Ca<sup>2+</sup> – Cálcio

CHCO<sub>3</sub> – Bicarbonato de sódio

CHT – Consumo hídrico total

CHPA – Consumo hídrico por animal

Cl – Cloro

COL – colesterol

CRDM – Consumo de ração diário médio

CSR – *Clostridium* sulfito redutores

CTO<sub>2</sub> – Conteúdo total de oxigênio

CV – Coeficiente de variação

DNA – Ácido desoxirribonucleico

*E. coli* – *Escherichia coli*

EA – Eficiência alimentar

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra acético

EMB – Eosina azul de metileno

EOR – Espécie de oxigênio reativa

EPM – Erro padrão da média

ETB – Enterobactérias

FA – Fosfatase alcalina

GLI – Glicose

GPD – Ganho de peso diário

Hct – hematócrito

Ig – imunoglobulinas

K<sup>+</sup> – Potássio

kg – quilograma

Lac – Lactato

MCFA – ácidos graxos de cadeia média

mL – mililitros

mg – miligramas

Na<sup>+</sup> – Sódio

NTA – Número de animais vivos na fase

OD – Ocorrência de diarreia

ORP – Potencial de oxirredução da água

PC – Profundidade de criptas

PCF – Peso corporal final

PCIA – Peso corporal inicial do animal amostrado na baia

PCO<sub>2</sub> – Pressão parcial do gás carbônico

pH – Potencial hidrogeniônico

PO<sub>2</sub> – Pressão parcial de oxigênio

PT – Proteínas totais

SO<sub>2</sub> – saturação de hemoglobina;

TGI – Trato gastrintestinal

Thb – Hemoglobina

Trat. – Tratamento

UFC – Unidade formadora de colônia

URE – Ureia

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2 REVISÃO</b> .....	21
2.1 Desmame dos leitões .....	21
2.2 Química dos acidificantes.....	22
2.3 Trato gastrintestinal e redução de pH .....	24
2.4 Propriedades antimicrobianas dos acidificantes .....	32
2.5 Digestibilidade de nutrientes de animais que tiveram na dieta inclusão de acidificantes .....	33
2.6 Impacto no desempenho e na produção.....	34
2.7 Impacto na imunidade, parâmetros redox e marcadores de lesão hepática .....	36
2.8 Referências .....	37
<b>3 ACIDIFICAÇÃO CONTÍNUA DA ÁGUA DE BEBIDA DE LEITÕES DESMAMADOS: EFEITOS NO DESEMPENHO E SAÚDE</b> .....	43
3.1 Introdução.....	47
3.2 Material e métodos .....	48
3.2.1 Animais, delineamento experimental e alojamento.....	49
3.2.2 Tratamentos experimentais, acidificantes, potencial de oxirredução da água de bebida e dietas .....	50
3.2.3 Análise das dietas .....	53
3.2.4 Desempenho zootécnico e mortalidades .....	53
3.2.5 Perfis bioquímico, de gasometria e antioxidante sanguíneos .....	54
3.2.6 Procedimentos de abate e morfometria intestinal.....	56
3.2.7 Biometria de órgãos digestórios e não digestórios .....	57
3.2.8 Microbioma intestinal.....	57
3.2.9 Procedimentos estatísticos.....	58
3.3 Resultados e discussão .....	59
3.3.1 Potencial de oxirredução da água e pH da água de bebida, desempenho zootécnico e mortalidades.....	59
3.3.2 Perfis bioquímico, de gasometria e antioxidante sanguíneos .....	63
3.3.3 Perfil antioxidante sanguíneo .....	66
3.3.4 Morfometria intestinal .....	68



3.3.5 Biometria de órgãos digestórios e não digestórios .....	69
3.3.6 Microbioma intestinal.....	70
<b>3.4 Conclusão .....</b>	<b>79</b>
<b>3.5 Referências .....</b>	<b>80</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>88</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A suinocultura é uma atividade socioeconômica que possui um papel importante na geração de empregos e renda para milhares de famílias no Brasil e no mundo. A proteína animal é um dos principais alimentos consumidos e necessários na cadeia alimentar de humanos e, devido ao crescimento populacional, a carne suína tem ganhado cada vez mais destaque na mesa do consumidor. No ano de 2022, foram produzidas mundialmente mais de 11,3 milhões de toneladas de carne suína, representando um crescimento de 5,73% em relação a 2021, destacando-se o Brasil como 4º maior exportador mundial dessa proteína (ABPA, 2023).

Para atender à grande demanda de produção, são necessários sistemas cada vez mais intensivos de criação, o que requer, conseqüentemente, mais mão de obra especializada para suprir as necessidades do setor produtivo. Em função de tal crescimento, a parte sanitária começa a ganhar mais desafios com a prevalência de diversas patologias que trazem prejuízos ao setor. Nesse sentido, os antimicrobianos são utilizados na suinocultura de forma profilática, metafilática e terapêutica para auxiliar na manutenção da sanidade dos animais, contudo, o uso indiscriminado, aliado a subdosagens, classes inadequadas e destino incorretos de resíduos, representa problema não só para produtores e trabalhadores da área, mas também para a saúde pública e ambiental (STELLA et al., 2020). Com isso, a sociedade começa a exigir a diminuição da utilização de antibióticos durante a produção, boas práticas para garantir o bem-estar animal e produtos de qualidade e rastreabilidade, atrelados à sustentabilidade social, econômica e ambiental.

Na Europa e na América do Norte, a administração oral de antibióticos nos períodos de aleitamento e pós-desmame são mais frequentes, cujo uso dos antibióticos é impulsionado por doenças específicas da idade e os patógenos comuns que causam essas condições (LEKAGUL; TANGCHAROENSATHIENB; YEUNG, 2019). O uso indevido de antibióticos e a ocorrência do aumento da resistência microbiana têm chamado à atenção do mercado consumidor e agentes governamentais, pressionando o desenvolvimento e a adoção de medidas alternativas para gerar alimentos mais seguros e que possam atrair o interesse pela busca de novos mercados consumidores dessa proteína no Brasil e no mundo. Nesse sentido, há busca por alternativas para a redução e/ou não utilização de aditivos antimicrobianos, visando melhorar a sanidade, desempenho e saúde

dos suínos.

O processo de desmame é um momento estressante para os leitões, o que pode causar diminuição do consumo de ração, resultando em alimentação inadequada e aumento do pH estomacal, e, conseqüentemente, interferir na atividade da pepsina, causando uma maior disponibilidade de proteínas não digeridas para fermentação no intestino pelo microbioma residente, o que está diretamente relacionado com maior incidência de diarreias. Quando a digestão é reduzida, menos nutrientes estão disponíveis para absorção pelo animal e, ao longo de vários dias, pode levar a uma redução no crescimento, refugagens e mortes (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015; GRESSE et al., 2017; NOWAK et al., 2021).

Nesse cenário, os ácidos têm ganhado destaque devido à sua atividade antimicrobiana, melhoria da saúde intestinal e por proporcionar efeitos benéficos sobre o desempenho dos animais, além de ser uma opção eficiente para a diminuição e/ou substituição dos antibióticos (DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017). Os ácidos podem ser classificados em ácidos orgânicos, inorgânicos ou sais de ácidos (PARTANEN; MROZ, 1999; PAPATSIROS; BILLINIS, 2012). Dentre os ácidos orgânicos, os ácidos de cadeia curta têm ganhado bastante atenção devido à sua capacidade de melhorar o desempenho, controlar bactérias patogênicas e melhorar a saúde intestinal de leitões (DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017). Entretanto, dentre os trabalhos presentes na literatura, é possível avaliar resultados variados entre os efeitos de níveis, combinações e desafios sanitários.

A redução do pH estomacal por meio do uso de acidificantes via ração ou água de bebida pode ter efeitos benéficos tanto no desempenho quanto na microbiota de leitões desmamados (NOWAK et al., 2021). Os acidificantes criam um ambiente intestinal favorável para microrganismos benéficos, podendo resultar em aumento da digestibilidade dos nutrientes, aumento do desempenho e também na redução de diarreia nos animais (PARTANEN; MROZ, 1999; PAPATSIROS; BILLINIS, 2012). Estudos mostram que a sua utilização proporcional leva a um pH gástrico diminuído ou estabilizado, o que pode gerar aumento da atividade da pepsina; modulação e alteração da microbiota benéfica e, conseqüentemente, inibir a atividade bacteriana patogênica; melhorando também a digestibilidade dos nutrientes no intestino delgado (LIU et al., 2018).

Sendo assim, a hipótese deste trabalho é de que a adição do acidificante na água

de bebida para leitões desmamados de forma contínua pode reduzir o pH do trato gastrintestinal e exercer ação antimicrobiana, potencializando a capacidade antioxidante sanguínea para melhora no desempenho zootécnico. Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de um produto comercial disponível no mercado, recomendado como aditivo regulador de acidez para água de bebida de monogástricos, em relação aos índices zootécnicos, morfometria e microbioma intestinais, biometria de órgãos digestórios e não digestórios, gasometria sanguínea e perfil bioquímico e antioxidante sanguíneo em leitões de creche, além da avaliação do potencial de oxirredução da água.

## 2 REVISÃO

### 2.1 Desmame dos leitões

O desmame precoce (entre 21 e 28 dias) é uma prática comercialmente vantajosa para a suinocultura, no entanto, pode trazer prejuízos e redução da lucratividade quando não corretamente coordenado, principalmente nas fases de creche. Esse manejo é marcado por mudanças ambientais, sociais e nutricionais sendo estressora aos leitões exigindo uma rápida adaptação à nova realidade sem a presença do ambiente em que se encontravam com a mãe (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015; WENSLEY et al., 2021).

O trato gastrointestinal dos leitões passa por modificações abruptas em sua morfometria e alterações de suas funções digestivas após o desmame. Ainda, são desencadeadas alterações das funções imunológicas, diminuição das funções de barreira da mucosa intestinal e aumento da susceptibilidade a agentes infecciosos, como por exemplo a *Escherichia coli* que causa a colibacilose, com sinais clínicos visíveis como a diarreia, redução no consumo de ração, redução no desempenho e até óbito (SILVEIRA et al., 2018; WENSLEY et al., 2021). O quadro pode ser agravado pela perda da imunidade passiva protetora obtida pelo leite materno, o que faz com que os leitões se tornem ainda mais suscetíveis a infecções no desmame (BUSSER et al., 2011).

Para minimizar infecções, alta incidência de diarreia e a redução no desempenho dos leitões, que podem ocorrer nesse período, a suinocultura utiliza uma quantidade significativa de antibióticos. Os princípios ativos e dosagens variam de acordo com a situação de cada granja e região, porém, atualmente sua utilização começa a ser questionada e novas leis vem surgindo sobre a proibição da utilização de algumas moléculas na produção animal. Estudos atuais descrevem a resistência de bactérias aos antibióticos, tanto em suínos quanto em humanos, promovendo o surgimento de cepas de patógenos resistentes, ocorrência de resíduos no ambiente e possível presença em produtos de origem animal (GENOVA et al., 2020).

Nesse sentido, a presente revisão destaca a química dos acidificantes, sua classificação, uso na nutrição animal e seus efeitos benéficos no desempenho, produção, absorção de nutrientes, digestibilidade, imunidade e combate a bactérias patogênicas em leitões pós desmame.

De acordo com Boas et al. (2016), os resultados de estudos que avaliam o efeito

da adição de ácidos na dieta de leitões desmamados ainda são controversos, não é possível estabelecer se essas variações são o resultado de diferenças na composição da dieta e nos tipos de ácido testados, suas concentrações e combinações específicas (mistura), ou se estão relacionadas ao sinergismo e/ou antagonismo entre os ingredientes e estes aditivos que podem mascarar possíveis efeitos. Portanto, mais estudos são necessários para estabelecer as condições específicas em que esses aditivos são eficazes.

## 2.2 Química dos acidificantes

Diversos estudos demonstram que a inclusão dietética com ácidos orgânicos e inorgânicos podem exercer efeitos positivos no crescimento e ser benéfico sobre a modulação da microbiota intestinal de leitões desmamados, levando a redução na incidência de diarreia e melhorando a saúde dos animais. Dessa forma, efeitos positivos da inclusão de ácidos podem ser atribuídos a vários fatores, incluindo: (1) atividade antimicrobiana de ácidos orgânicos não dissociados; (2) diminuição do pH da digesta, particularmente no estômago, auxiliando na digestão de proteínas; (3) redução da taxa de esvaziamento do estômago; (4) estímulo da produção e atividade de enzimas (pancreáticas) no intestino delgado; e (5) fornecimento de nutrientes ao tecido intestinal, aumentando a integridade e a função da mucosa (DE LANGE et al., 2010).

Os ácidos orgânicos possuem especificidade acidificante devido à presença do grupo funcional carboxila (-COOH) em sua composição (NGUYEN; SEOK; KIM, 2020). Eles podem ser classificados em três categorias funcionais principais: ácidos graxos de cadeia curta, ácidos graxos de cadeia média e ácidos tricarbóxicos (TUGNOLI et al., 2020).

Os ácidos orgânicos comumente utilizados na suinocultura são caracterizados como ácidos fracos e de cadeia curta (contendo até sete carbonos). Entretanto, seu efeito na redução do pH e na atividade antimicrobiana varia com seu estado de dissociação, dependendo do pKa (constante de dissociação) específico de cada ácido (NGUYEN; SEOK; KIM, 2020). Assim, quanto menor o valor de pKa, maior sua capacidade de diminuir o pH do ambiente (maior dissociação). A maioria dos ácidos usados como aditivos alimentares tem valor de pKa entre 3 e 5, o que resulta em dissociação intermediária ou baixa (PEARLIN et al., 2020).

Entre os ácidos orgânicos utilizados na alimentação destacam-se os ácidos fórmico, propiônico, butírico, láctico, sórbico, benzóico, fumárico, málico, cítrico, e os sais, como formato de cálcio, lactato de cálcio, propionato de cálcio, diformato de potássio, butirato de sódio, citrato de magnésio e lactato de sódio sozinhos ou em associações. O uso conjunto de ácidos orgânicos e sais, além dos *blends*, ambos administrados na forma cristalina, livre ou protegidos, apresentam bons resultados para leitões na fase de desmame e creche (DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017).

O ácido cítrico é cristalino, inodoro e tem um sabor azedo agradável, sendo menos antibacteriano em comparação com outros ácidos e não afeta significativamente o pH e a concentração de ácidos graxos voláteis ou não voláteis. O ácido fumárico é cristalino, inodoro e tem um sabor azedo. O ácido fumárico e o ácido cítrico dietéticos são absorvidos por um mecanismo comum de gradiente de  $\text{Na}^+$ , que é específico para di e tricarboxilatos (PARTANEN; MROZ, 1999; SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). O ácido ascórbico pode melhorar o estado oxidativo e resposta imune dos leitões no período pós-desmame (REY, LÓPEZ-BOTE, LITTA, 2017).

No consumo de ração pelos animais, as formas livres dos ácidos orgânicos podem influenciar diretamente a palatabilidade de dietas, devido ao fato de alguns ácidos possuírem odor repugnante (MROZ, 2005). Por outro lado, alguns trabalhos sugerem que a administração desses ácidos é mais eficaz através da água de bebida e não através da ração, pois a ingestão de água nas 24 horas após desmame é aumentada, no entanto, poucos estudos avaliam os efeitos dos ácidos orgânicos fornecidos pela água no período imediatamente após o desmame ou durante todo o período de creche (BUSSER et al., 2011).

Os ácidos inorgânicos incluem os ácidos clorídrico, sulfúrico e fosfórico. Ao contrário dos ácidos orgânicos como o cítrico, os ácidos clorídrico e fosfórico reduzem o pH estomacal, inibem os microrganismos nocivos que são sensíveis ao baixo pH (como *Enterobacteriaceae*), mas não melhoram a taxa de crescimento ou a conversão alimentar de suínos *in vivo*. Por conta disso, muitas vezes, misturas de acidificantes estão disponíveis comercialmente porque os ácidos orgânicos e inorgânicos têm um efeito sinérgico (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015; KANSAS STATE UNIVERSITY, 2022).

### 2.3 Trato gastrintestinal e redução de pH

Desordens fisiológicas associadas à imaturidade gastrintestinal e a limitada produção de ácidos e enzimas digestivas aumentam a incidência de diarreias em leitões pós-desmame (DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017), isso porque o trato gastrintestinal não está totalmente desenvolvido e o pH do estômago tende a ser alto (geralmente acima de 5), devido a uma combinação de deficiência na secreção endógena de HCl, falta de ácido láctico da fermentação da lactose e ingestão de grandes quantidades de alimentos em intervalos não frequentes. Há também evidências de que o pH elevado aumenta a taxa de esvaziamento gástrico, reduzindo, assim, o tempo para que o alimento seja digerido no estômago (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015; TUGNOLI et al., 2020).

Devido à imaturidade do sistema digestório dos leitões, a utilização dos nutrientes fica comprometida devido à baixa capacidade de secreção do ácido clorídrico, não havendo a ativação da pepsina (DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017), que necessita de pH estomacal entre 2,0 a 3,5 para ser ativada e proporcionar melhor digestão de nutrientes (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). Além disso, até a idade de desmame dos leitões, o sistema digestivo não é capaz de produzir quantidades suficientes de lipase, amilase e protease para a digestão de matérias-primas de origem vegetal (CHAMONE et al., 2010). Dessa forma, alimentos não digeridos tornam-se substrato proteico para o desenvolvimento de bactérias patogênicas, capazes de causar diarreias e outros distúrbios fisiológicos (CHAMONE et al., 2010; DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017).

Para superar os problemas de pH estomacal em leitões desmamados, os nutricionistas defendem a acidificação da dieta por meio da inclusão de ácidos (KIL; KWON; KIM, 2011). Dentre os acidificantes, os ácidos orgânicos são conhecidos por terem um efeito positivo no desempenho através da redução do pH e da sua ação antimicrobiana (ESCUREDO et al., 2016).

Uma das vantagens da utilização de acidificantes na dieta de leitões é a sua capacidade de melhorar o epitélio intestinal, através do aumento da altura das vilosidades, que possibilita maior superfície de contato para absorção dos nutrientes (DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017). Outra vantagem é que esses compostos são capazes de alterar o pH estomacal, inibindo o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e



indiretamente, reduzem a incidência de diarreias (GRECCO, 2014).

Na Tabela 1, estão compilados dados de estudos com uso de acidificantes nas dietas dos leitões, apresentando os tratamentos ou concentração dietética usados nas pesquisas, fonte da acidificação, espécie, categoria e duração do estudo, características estudadas e principais resultados encontrados.

De acordo com Oliveira Júnior et al. (2022), o uso de um acidificante composto de ácido benzóico, sórbico, fórmico, láctico e fosfórico na forma protegida como aditivo alimentar, proporcionou maior efeito na redução inicial do pH e menor taxa de tamponamento linear da dieta em comparação a um acidificante composto por cinco ácidos orgânicos, incluindo ácidos benzóico, láctico, fórmico, fumárico e cítrico. Já o uso de uma mistura de ácidos orgânicos livres e tamponados aumentou a ingestão de água potável (ESCUREDO et al., 2016), enquanto Busser et al. (2011) observaram que a acidificação da água potável a um pH baixo pode ser útil para reduzir a carga de *E. coli* em leitões e pode ser usado em rebanhos afetados com diarreia pós-desmame (Tabela 1).

**Tabela 1.** Uso de acidificantes na dieta de leitões

Tratamentos dietéticos	Fonte	Espécie, categoria e duração do estudo	Características estudadas	Resultados	Referências
Exp. 1: fatorial 3 x 2 (tratamento dietético x acidificação); Exp. 2: fatorial 3 x 2 (tratamento dietético x acidificação).	Exp 1- na ração: ácido fosfórico, fumárico, lático e cítrico e água: Ácido propiônico, acético e benzóico; Exp 2 - na água: Ácido propiônico, acético e benzóico.	Exp. 1: 204 leitões; 6,04 kg; 19,2 dias; Exp. 2: 210 leitões; 5,65 kg; 18,3 dias.	Desempenho, pH fecal e microbiota.	Exp. 1 e 2: não houve efeito dos tratamentos sobre a presença de <i>Salmonella</i> fecal e o ácido orgânico proporcionou desempenho de crescimento similar às dietas com uso de antibiótico.	Walsh et al., 2007.
Mistura de ácidos na água para atingir pH final de 6, 5 ou 4.	Mistura de ácidos orgânicos (ácido lático, fórmico, propiônico e acético).	240 leitões; 7,8±1,2 kg; 5 semanas.	Eliminação fecal de <i>E. coli</i> , parâmetros de desempenho e saúde.	Na água com pH 5 foi obtido maior ganho de peso diário e a menor taxa de mortalidade; Na água com pH 4 houve menor excreção de <i>E. coli</i> , mas diminuiu a ingestão de água.	Busser et al., 2011.
Grupo I - controle; Grupo II - PF: 0,5% de ácidos propiônico e fórmico; Grupo III (PF + C8); Grupo IV (PF + C10 + 0,2% de ácido cáprico); Grupo V (PF + C8 + C10 + 0,2% de ácido cáprico).	Acidificantes contendo ácidos graxos de cadeia curta (propiônico C3 e fórmico), juntamente com ácidos graxos de cadeia média (caprílico C8 e cáprico C10).	326 leitões; Desempenho: 2,62 kg; 84 dias; Digestibilidade: 10,8-13,1 kg.	Desempenho, digestibilidade aparente dos nutrientes, microflora intestinal e estrutura do intestino delgado.	Leitões que receberam ácido cáprico (grupos IV e V) tiveram os maiores ganhos de peso corporal.	Hanczakowska et al., 2013.

Tratamentos dietéticos	Fonte	Espécie, categoria e duração do estudo	Características estudadas	Resultados	Referências
<p>NC: Controle negativo - dieta basal;            PC: controle positivo; dieta basal + 0,002% de apramicina;            T1: dieta basal + 0,5% de ácido cítrico puro e            T2: dieta basal + 0,4% de mistura acidificante.</p>	<p>Ácido cítrico puro;            Mistura de acidificantes: ácido fórmico 17,2%, ácido propiônico 4,1%, ácido láctico 10,2%, ácido fosfórico 9,5%, SiO<sub>2</sub> 34,0%.</p>	<p>60 leitões desmamados; 8 kg; 28 dias.</p>	<p>Desempenho, microflora fecal e imunidade humoral.</p>	<p>Acidificação da dieta com ácido cítrico afeta positivamente a taxa de conversão alimentar e reduz a carga bacteriana patogênica que foi comparável à apramicina; A concentração sérica de IgG foi aumentada pela dieta T1 (adição de 0,5% de ácido cítrico puro).</p>	<p>Ahmed et al., 2014.</p>
<p>Trat 1: dieta basal;            Trat 2: dieta basal + 2000 mg/kg ácido benzóico;            Trat 3: dieta basal + 5000 mg/kg ácido benzoico.</p>	<p>Ácido benzóico na dieta.</p>	<p>90 leitões desmamados aos 21 dias; 6,73 kg; 42 dias.</p>	<p>Desempenho, análise enzimática e microflora intestinal.</p>	<p>O ácido benzóico tem efeitos benéficos no desenvolvimento intestinal e na função da barreira intestinal de leitões desmamados.</p>	<p>Chen et al., 2016.</p>
<p>Trat. 1: melhorador;            Trat. 2: mistura de ácidos orgânicos + melhorador;            Trat. 3: mistura de ácidos orgânicos + melhorador reduzido.</p>	<p>Ácido fórmico, ácido acético e formato de amônio.</p>	<p>420 leitões; 6,1 ± 0,14 kg; 4 semanas.</p>	<p>Desempenho e ingestão de água.</p>	<p>Melhoria de desempenho e ingestão de água para Trat 3.</p>	<p>Escuredo et al., 2016.</p>

Tratamentos dietéticos	Fonte	Espécie, categoria e duração do estudo	Características estudadas	Resultados	Referências
<p>Controle - dieta sem uso de acidificante; <i>Blend</i>: 0,5% da mistura de ácidos orgânicos; Butirato: 0,1% de butirato de sódio; <i>Blend</i> + Butirato: 0,5% da mistura de ácidos orgânicos e 0,1% butirato de sódio.</p>	<p>Mistura de ácidos orgânicos (<i>blend</i>): 21% de ácido láctico, 18% de ácido fórmico e 10% de ácido cítrico. Butirato de sódio microencapsulado 30%.</p>	<p>Desempenho: 64 leitões híbridos desmamados; 5,87±0,31kg; 45 dias. Digestibilidade: 24 leitões machos, castrados, híbridos; 8,21±0.79kg.</p>	<p>Desempenho e digestibilidade.</p>	<p>Não altera o desempenho ou a digestibilidade dos nutrientes.</p>	<p>Boas et al., 2016.</p>
<p>Dieta basal (ZnO 2,5 g/kg + sulfato de colistina (20 mg/kg) + enramicina 20 mg/kg) Dieta teste: ZnO (2,5 g/kg) + SF3 (34% de formiato de cálcio, 16% de lactato de cálcio, 7% de ácido cítrico e 13% de ácidos graxos de cadeia média (5g/kg)).</p>	<p>SF 3: 34% de formiato de cálcio, 16% de lactato de cálcio, 7% de ácido cítrico e 13% de ácidos graxos de cadeia média.</p>	<p>14 leitões desmamados aos 28 dias; 9,03 kg; 14 dias.</p>	<p>Digestibilidade de nutrientes, população microbiana GIT, imunidade humoral e expressão de genes responsável pela imunidade.</p>	<p>A inclusão de ácidos orgânicos na dieta teve efeito positivo na resistência à diarreia de leitões desmamados por meio da modificação do perfil bacteriano e melhoria da digestibilidade dos nutrientes e imunidade dos leitões.</p>	<p>Wang et al., 2016.</p>

Tratamentos dietéticos	Fonte	Espécie, categoria e duração do estudo	Características estudadas	Resultados	Referências
Diferentes níveis de ácido benzóico (0,00%, 0,25%, 0,50% e 0,75%) desafio com <i>Escherichia coli</i> .	Ácido benzóico.	224 leitões desmamados; 6,37±0,34 kg; Fase de berçário (42 dias) até terminação (147 dias).	Desempenho, propriedades físico-químicas do intestino, concentração de ácidos graxos voláteis no ceco e incidência de diarreia.	Diminuiu a incidência de diarreia nos leitões, aumento na altura das vilosidades no jejuno e íleo, diminuiu a profundidade da cripta no ceco, aumentou tendencialmente a concentração de ácido butírico no conteúdo cecal.	Silveira et al., 2018.
Dieta basal (CON); CON + 0,2% de ácido orgânico desprotegido (UOA); CON + 0,1% de ácido orgânico protegido (POA1) e CON + 0,2% de POA (POA2).	Ácido orgânico: 17% de ácido fumárico, 13% de ácido cítrico, 10% de ácido málico, 1,2% de MCFA (ácidos cáprico e caprílico) e transportador.	112 leitões desmamados; 6,70±1,31 kg; 42 dias.	Desempenho, digestibilidade de nutrientes e contagem microbiana fecal.	A suplementação dietética de 0,2% de POA tem o potencial de melhorar o desempenho de crescimento e reduzir a incidência de diarreia, equilibrando as contagens microbianas.	Yang; Lee; Kim, 2019.
Controle negativo x acidificante de água (pH de 3,8).	Ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, cobre, acetato de zinco, formato de amônio.	192 leitões machos; 8,73 kg (entre 6,6 e 11,6 kg); 42 dias.	Desempenho, consistência fecal, ingestão de água e microbiota.	Melhora na eficiência alimentar e aumento do consumo de água, além de modulação da microbiota.	Lingbeek et al., 2021.

Tratamentos dietéticos	Fonte	Espécie, categoria e duração do estudo	Características estudadas	Resultados	Referências
<p>OA1: 290 g·kg<sup>-1</sup> ácido fórmico e 145 g·kg<sup>-1</sup> ácido propiônico;            OA2: ácidos fórmico, propiônico e butírico e inulina (fruto-oligossacarídeos);            (1) controle negativo (NC);            (2) NC + 0,15% e 0,10% OA1;            (3) NC + 0,2% OA2;            (4) NC + 220 mg de clortetraciclina/kg.</p>	<p>OA1: ácidos fórmicos e propiônico;            OA2: ácidos butírico, fórmico e propiônico líquidos livres e seus sais, e fruto-oligossacarídeos.</p>	<p>Desempenho e digestibilidade: 35 dias; 7,93 ± 1,04 kg.</p>	<p>Desempenho, digestibilidade de nutrientes e morfologia intestinal.</p>	<p>Efeitos benéficos na eficiência alimentar, morfologia no intestino delgado e proliferação de bactérias benéficas; não houve efeitos na digestibilidade dos nutrientes e nos níveis de citocinas no sangue.</p>	<p>Lee et al., 2022.</p>
<p>Exp.1 - Digestibilidade: dieta controle e dois aditivos compostos por misturas de acidificantes comerciais (AC1 e AC2) na forma protegida;            Exp. 2 - desempenho: níveis de inclusão (0,25, 0,50, 0,75, 1 e 2%).</p>	<p>AC1: ácidos orgânicos - ácidos benzóico, láctico, fórmico, fumárico e cítrico, com concentração de 7286 mEq H<sup>+</sup>/kg, 23,5%.            AC2: por ácidos benzóico, sórbico, fórmico, láctico e fosfórico, com concentração de 7302 mEq de H<sup>+</sup>/kg, 53,8%.</p>	<p>Digestibilidade: 36 leitões; 6,85 ± 0,85 kg; 10 dias;            Desempenho: 24 leitões; 8,59 ± 1,19kg; 21 dias.</p>	<p>Digestibilidade, metabólitos sanguíneos e desempenho.</p>	<p>Não melhorou a digestibilidade dos nutrientes das dietas; O uso do acidificante AC2 no nível de 0,26% teve maior efeito na redução inicial do pH, e os maiores valores de ganho de peso diário.</p>	<p>Oliveira et al., 2022.</p>

Tratamentos dietéticos	Fonte	Espécie, categoria e duração do estudo	Características estudadas	Resultados	Referências
<p>(1): água acidificada, 19% ác. fórmico + 19% ác. acético + 3,5% ác. propiônico + 15% ác. láctico, pH= 4;</p> <p>(2) água acidificada, 22% ác. fórmico + 16% ác. acético + 4% ác. propiônico, pH= 4;</p> <p>(3) água acidificada, 22% ác. fórmico + 16% ác. acético + 4% ác. propiônico + 0,5% esteviosídeo, pH= 4;</p> <p>(4) controle, água não tratada, pH= 7.</p>	<p>Ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico e ácido láctico.</p>	<p>400 leitões desmamados; 9,05-10,41 kg; 35 dias.</p>	<p>Desempenho, hemograma completo, indicadores antioxidantes e diversidade da microbiota gastrointestinal</p>	<p>Melhorou o desempenho de crescimento e a taxa de sobrevivência dos leitões desmamados; aumentaram as atividades da catalase sérica e da capacidade antioxidante total, além de apresentarem uma concentração diminuída de malondialdeído; aumentou a abundância relativa de Firmicutes e Lactobacillus nos intestinos e melhorou a estrutura da comunidade da flora intestinal</p>	<p>Xu et al., 2022.</p>

Fonte: Autor (2023).

## 2.4 Propriedades antimicrobianas dos acidificantes

Para manter a suinocultura lucrativa, é imprescindível encontrar alternativas/substituições aos antibióticos na ração que sejam eficazes na redução da incidência e gravidade dos problemas digestivos associados ao período imediatamente após o desmame (HEO et al., 2013). Como aditivos alimentares funcionais encontram-se os acidificantes, que têm desempenhado papel importante na melhoria do crescimento animal, imunidade e saúde intestinal, além de não provocarem resistência microbiana (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

Quanto ao modo de ação, os ácidos podem penetrar na parede celular bacteriana e interromper as ações normais de certos tipos de bactérias, incluindo *Salmonella* spp., *E. coli*, *Clostridium* spp., *Listeria* spp. e alguns coliformes (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). Isso se deve ao pH, mas, em especial, aos valores de pKa, pois os ácidos em sua forma não dissociada podem se difundir através da membrana celular bacteriana e se dissociar dentro da célula, liberando íons H<sup>+</sup> e diminuindo o pH intracelular. Para tentar contornar a diminuição do pH, os microrganismos ativam bombas de prótons e há consumo de energia e, ao mesmo tempo, o ânion RCOO<sup>-</sup> é tóxico para a replicação do DNA, interrompendo funções metabólicas e aumentando a pressão osmótica da célula. A combinação dessas duas ações inibe a replicação e o crescimento bacteriano, levando a efeitos bacteriostáticos ou bactericidas. O efeito bacteriostático também é resultado da forma dissociada dos ácidos, em que a liberação de íons H<sup>+</sup> faz com que o baixo pH do meio iniba a replicação bacteriana (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015; TUGNOLI et al., 2020).

Portanto, a redução no número de algumas espécies de bactérias intestinais normais, bem como de bactérias patogênicas, pode ocorrer em animais alimentados com ácidos (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). A eficácia da água potável acidificada é, em grande, parte baseada na redução do pH para um nível de 4,0, em que as *Enterobacteriaceae* não podem se multiplicar (XU et al., 2022), enquanto não afetam as bactérias benéficas ácido lácticas (TUGNOLI et al., 2020). O ácido láctico, por exemplo, reduz o pH gástrico e retarda a multiplicação de *E. coli*. Os ácidos orgânicos, quando absorvidos, entram como produtos intermediários do ciclo do ácido cítrico e, portanto, podem atuar como fonte de energia evitando a degradação tecidual resultante da gliconeogênese e da lipólise (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).



Busser et al. (2011) verificaram que a redução do pH (de 8 para 4) da água de bebida usando uma mistura de ácidos orgânicos (ácido láctico, fórmico, propiônico e acético) em leitões recém-desmamados reduziu a carga de *E. coli* na excreção fecal, e concluíram que essa mistura pode ser usada em rebanhos afetados com diarreia pós-desmame. Já Hanczakowska et al. (2013), verificaram que acidificantes contendo ácidos graxos de cadeia curta (propiônico e fórmico) reduziram a população de *Clostridium perfringens*, não interferindo na colonização de outras espécies (Tabela 1).

Yang, Lee e Kim (2019) observaram que a suplementação dietética com 0,2% de ácido orgânico protegido para leitões desmamados tem efeitos benéficos na microbiota fecal com redução da incidência de diarreia, além reduzir as emissões de gases fecais (NH<sub>3</sub> e ácido acético). A redução desses gases odoríferos ocorre em função da redução da população bacteriana patogênica no trato gastrointestinal ou ao aumento da atividade microbiana benéfica, levando a alterações nos compostos finais da fermentação microbiana e uma mudança no ecossistema para um estado anabólico. Também foi observado que o ácido orgânico protegido aumentou numericamente as contagens de *Lactobacillus*, mas reduziu as contagens de *E. coli* em suínos. Já Wang et al. (2016) verificaram que a adição de ácidos orgânicos (34% de formiato de cálcio, 16% de lactato de cálcio, 7% de ácido cítrico e 13% de ácidos graxos de cadeia média) na dieta de leitões desmamados teve efeito positivo no perfil bacteriano, aumentando a imunidade dos leitões e com menor ocorrência de diarreia (Tabela 1).

## 2.5 Digestibilidade de nutrientes de animais que tiveram na dieta inclusão de acidificantes

A adição de acidificantes na dieta de leitões desmamados pode melhorar a digestibilidade de proteínas, pois, para uma digestão eficiente de proteínas, é necessária a manutenção de um baixo pH gástrico, porque um baixo pH estomacal ativa enzimas proteolíticas, como a pepsina (convertendo o pepsinogênio inativo em pepsina). Outra hipótese é de que os acidificantes da dieta podem, através da acidificação do conteúdo do estômago, retardar a taxa de passagem da digesta gástrica para o duodeno, estimular a secreção de suco pancreático (composto basicamente por água, enzimas e bicarbonato) com enzimas pancreáticas, neutralizando o pH ácido da secreção oriunda do estômago,

permitindo uma digestão adicional de proteínas e outros nutrientes (PARTANEN; MROZ, 1999; KIL; KWON; KIM, 2011). Dentre os acidificantes, os ácidos orgânicos e seus sais podem aumentar a utilização de proteínas, principalmente em leitões desmamados, melhorando os índices de produção (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

Hanczakowska et al. (2013) verificaram melhor digestibilidade da proteína em leitões alimentados com acidificantes provenientes de uma mistura de ácidos graxos de cadeia curta (propiónico e fórmico) com ácido cáprico, provavelmente devido a alterações na mucosa do intestino delgado, que apresentaram vilosidades intestinais mais altas (Tabela 1). Já Suiryarayna e Ramana (2015) afirmam que a excreção de nitrogênio e minerais suplementares é minimizada com a utilização de ácidos orgânicos, pois estes formam complexos com minerais e auxiliam em sua biodisponibilidade, enquanto Yang, Lee e Kim (2019), verificaram que a suplementação dietética com 0,2% de ácido orgânico protegido para leitões desmamados aumentou a digestibilidade de nutrientes da matéria seca e do nitrogênio (Tabela 1).

Boas et al. (2016) analisaram o efeito da suplementação de dietas complexas com ácidos orgânicos sobre o desempenho de leitões desmamados e a digestibilidade dos nutrientes, avaliando o efeito da inclusão de uma mistura de ácido láctico, fórmico e cítrico, combinado ou não com butirato de sódio. Os autores verificaram que a adição de acidificantes (*blend* e butirato de sódio) como promotores de crescimento em dietas complexas de alta digestibilidade não alterou o desempenho ou a digestibilidade dos nutrientes dos leitões durante a fase de aleitamento (Tabela 1). Da mesma forma, Lee et al. (2022) não obtiveram efeitos dos ácidos orgânicos dietéticos na digestibilidade dos nutrientes em leitões desmamados (Tabela 1).

Wang et al. (2016) observaram que a inclusão de ácidos orgânicos (34% de formiato de cálcio, 16% de lactato de cálcio, 7% de ácido cítrico e 13% de ácidos graxos de cadeia média) na dieta levou à melhoria da digestibilidade dos nutrientes e imunidade dos leitões (Tabela 1).

## 2.6 Impacto no desempenho e na produção

Estudos apontam que a melhor digestibilidade de nutrientes e uma população

microbiana equilibrada, devido à adição de acidificantes à dieta, melhoram o desempenho em leitões desmamados (KIL; KWON; KIM, 2011). Neste sentido, Lingbeek et al. (2021) observaram que a adição de um acidificante contendo ácidos graxos de cadeia curta livres e tamponados (contendo ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, cobre, acetato de zinco, formato de amônio e pH de 2,7 a 3,3) na água melhorou a eficiência alimentar em leitões (Tabela 1).

Xu et al. (2022) verificaram que a suplementação da água potável com acidificantes (fornecimento contínuo com 19% de ácido fórmico + 19% de ácido acético + 3,5% de ácido propiônico + 15% de ácido láctico, pH= 4) melhorou o desempenho de crescimento e taxa de sobrevivência de leitões desmamados (Tabela 1), enquanto que Escuredo et al. (2016) concluíram que o peso vivo e o ganho médio diário dos leitões foi significativamente maior nos tratamentos com os ácidos orgânicos livres e tamponados na água de bebida (Tabela 1). Já Chen et al. (2016) apresentam as primeiras evidências de que o ácido benzóico tem efeitos benéficos no desenvolvimento intestinal e na função da barreira intestinal de leitões desmamados, o que pode explicar, parcialmente, porque o desempenho de crescimento de suínos foi melhorado pela suplementação dietética com esse ácido na dieta dos animais.

Wang et al. (2022) realizaram revisão sistemática e meta-análise para determinar quais acidificantes foram mais eficientes na melhora do desempenho, quando suplementados na dieta de suínos. Na metanálise, cinquenta e dois artigos foram selecionados para avaliar os efeitos dos acidificantes sobre o ganho de peso diário, consumo diário de ração e eficiência alimentar, por meio de comparações com dietas controle ou suplementadas com antibiótico. Para a realização das análises, os acidificantes investigados foram classificados em quatro categorias: ácidos orgânicos, ácidos inorgânicos, sais de ácidos e misturas de ácidos. Na comparação de suínos alimentados com dietas suplementadas ou não com acidificantes, os autores observaram melhora de 6,7 e 5,0% para ganho de peso diário e eficiência alimentar, respectivamente. Comparando os quatro tipos de acidificantes, os autores apresentam que os animais alimentados com misturas de ácidos tiveram o maior ganho de peso e eficiência alimentar, seguidos por ácidos orgânicos e sais de ácidos, e verificaram que os efeitos dos acidificantes sobre ganho de peso e eficiência alimentar foram significativamente diferentes entre os quatro tipos de acidificantes. Em conclusão, os autores observaram que a adição de uma variedade de acidificantes pode proporcionar uma melhora

significativa no crescimento dos suínos.

## 2.7 Impacto na imunidade, parâmetros redox e marcadores de lesão hepática

A maioria das células imunes estão localizadas na mucosa e submucosa do intestino (cerca de 70%). O sistema imunológico no intestino dos leitões atinge uma estrutura semelhante a de um suíno adulto em torno das sete semanas de idade. Entretanto, o desmame de suínos é feito na faixa de três a quatro semanas de idade e afeta o desenvolvimento sistêmico da imunidade inata e adaptativa, principalmente, como consequência da retirada do leite (ZHENG et al., 2021).

Basicamente, o sistema imune reage aos antígenos, liberando citocinas (anti-inflamatórias - IL-10 e TGF- $\beta$ , ou pró-inflamatórias - IL-1, IL-2, IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ) que ativam os componentes celulares, os fagócitos, e os componentes humorais, os anticorpos (SANTOS et al., 2021). A exposição máxima aos antígenos ocorre em dois períodos importantes, imediatamente após o nascimento e no desmame. Ao desmame, as mudanças abruptas na dieta e no ambiente induzem alterações na resposta imune da mucosa (GRESSE et al., 2017).

Após a identificação dos agentes agressores (sejam vírus, bactéria, fungos, protozoários, toxinas ou corpos estranhos), o sistema imune tenta combater os efeitos prejudiciais das moléculas isoladas e destruir os microrganismos, através da ação dos linfócitos, agrupados em dois tipos principais: os linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos (imunidade humoral) e os linfócitos T, responsáveis pela resposta imunitária mediada por células (imunidade celular). Nos suínos, foram encontradas quatro classes de imunoglobulinas (Ig): IgM, IgG, IgA e IgE (SANTOS et al., 2021)

O tecido linfoide associado ao intestino é formado por folículos linfoides isolados e agregados, formando placas de Peyer e linfonodos mesentéricos. A indução de reações imunes intestinais começa com a apresentação de antígenos por células Microfold (células M). A lâmina própria serve como um compartimento da mucosa para a regulação das respostas imunes (predominantemente IgA), com poucas células T ou células dendríticas, mas com células mieloides com características de macrófagos e granulócitos. A produção de anticorpos secretores, principalmente IgA e IgM, é a

principal característica de defesa do sistema imunológico da mucosa. Esses anticorpos são transportados ativamente por células epiteliais imaturas nas criptas, e a exclusão imunológica é realizada pelos mecanismos de defesa inatos gerados em conjunto com mecanismos de defesa inespecíficos (ZHENG et al., 2021). A IgA secretada no lúmen intestinal se liga à camada de muco que reveste a superfície epitelial e impede a aderência de microrganismos, além de neutralizar suas toxinas ou enzimas (GROOT et al., 2021).

A maior expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ) é observada em suínos ao desmame, induzindo distúrbios na barreira intestinal e aumentando a permeabilidade epitelial intestinal. Além disso, a inflamação está frequentemente associada ao estresse oxidativo intestinal, e a interrupção do status redox celular que pode causar excesso de produção de citocinas pró-inflamatórias, o que pode prejudicar ainda mais a função intestinal. Dessa forma, o desenvolvimento adequado do sistema imunológico intestinal e a manutenção do estado redox normalmente são essenciais para um ótimo desenvolvimento dos suínos (ZHENG et al., 2021). Entretanto, o controle da inflamação intestinal pela rápida resposta e superexpressão de citocinas pró-inflamatórias intestinais (IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ) durante os primeiros dois dias após o desmame, e posterior regulação negativa, pode aliviar os distúrbios intestinais subsequentes induzidos pelo estresse do desmame, uma vez que acelera a maturação do sistema imune intestinal (PIÉ et al., 2004).

Ahmed et al. (2014) verificaram que a concentração sérica de IgG foi aumentada pela dieta basal com adição de 0,5% de ácido cítrico puro, enquanto que IgM e IgA não foram significativamente afetados por nenhum dos tratamentos dietéticos (Tabela 1).

De forma geral, a acidificação de dietas para leitões desmamados é benéfica frente aos desafios que a fase representa para os animais. Devido às variações de acidificantes disponíveis para utilização na produção, associados à ração ou na dieta hídrica em forma de *blends*, a utilização de aditivos alimentares funcionais gera oportunidades de melhorias sanitárias, redução da utilização de antibióticos e oportunizando mais estudos relacionados ao tema.

## 2.8 Referências

AHMED, S.; HWANG, J.; HOON, J.; MUN, H.; YANG, C. Comparison of Single and Blend Acidifiers as Alternative to Antibiotics on Growth Performance, Fecal

- Microflora, and Humoral Immunity in Weaned Piglets. **Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 1, p. 93-100, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13411>>. Acesso em: 25/11/2022.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL – ABPA. **Relatório Anual 2023**. p.1-144. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/04/Relatorio-Anual-2023.pdf>. Acesso em: 5/02/2023.
- BOAS, A.D.C.V.; BUDIÑO, F.E.L.; NETO, M.A.T.; SCHMIDT, A.; DADALT, J.C.; MONFERDINI, R.P.; SITANAKA, N.Y.; MORAES, J.E.; PIZZOLANTE, C.C. Organic acids in diets of weaned piglets: performance, digestibility and economical viability. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 68, n. 4, p. 1015-1022, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-8501>>. Acesso em: 16/03/2023.
- BUSSER, E.V.; DEWULF, J.; ZUTTER, L.P.; HAESEBROUCK, F.; CALLENS, J.; MEYNS, T.; MAES, W.; MAES, D. Effect of administration of organic acids in drinking water on faecal shedding of *E. coli*, performance parameters and health in nursery pigs. **The Veterinary Journal**, v. 188, n. 2, p. 184–188, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.04.006>>. Acesso em: 22/03/2023.
- CHAMONE, J.M.A.; MELO, M.T.P.; AROUCA, C.L.C.; BARBOSA, M.M.; SOUZA, F.A.; SANTOS, D. Fisiologia digestiva de leitões. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 7, n. 5, p. 1353-1363, 2010.
- CHEN, J. L.; ZHENG, P.; ZHANG, C.; YU, B.; HE, J.; YU, J.; LUO, J.Q.; MAO, X.B.; HUANG, Z.Q.; CHEN, D. W. Benzoic acid beneficially affects growth performance of weaned pigs which was associated with changes in gut bacterial populations, morphology indices and growth factor gene expression. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, n. 6, p. 1137–1146, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/doi:10.1111/jpn.12627>>. Acesso em: 05/02/2023.
- DE LANGE, C.F.M.; PLUSKE, J.; GONG, J.; NYACHOTI, C. M. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**, v. 134, n. 1-3, p. 124–134, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.117>>. Acesso em: 23/11/2022.
- DENCK, F.M.; HILGEMBERG, J.O.; LEHNEN, C.R. Uso de acidificantes em dietas para leitões em desmame e creche. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 256, p. 629-638, 2017.
- ESCUREDO, J.A.M.; HORST, Y.V.D.; CARR, J; MAES, D. Implementing drinking water feed additive strategies in post-weaning piglets, antibiotic reduction and performance impacts: case study. **Porcine Health Management**, v. 2, n. 25, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40813-016-0043-0>>. Acesso em: 10/12/2022.
- GENOVA, J.L.; MELO, A.D.B.; RUPOLO, P.E.; CARVALHO, S.T.; COSTA, L.B.; CARVALHO, P.L.O. A summary of feed additives, intestinal health and intestinal

- alkaline phosphatase in piglet nutrition. **Czech Journal of Animal Science**, v. 65, p. 281–294, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.17221/70/2020-CJAS>>. Acesso em: 20/02/2023.
- GRECCO, H.A.T. **Acidificantes em dietas de leitões desmamados: desempenho, peso de órgãos, pH, morfometria e microbiota intestinal**. 2014. 65f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu.
- GRESSE, R.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; FLEURY, M.A.; VAN DE WIELE, T.; FORANO, E.; BLANQUET-DIOT, S. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. **Trends in Microbiology**, v. 25, p. 851–873, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.05.004>>. Acesso em: 10/04/2023.
- GROOT, N.; FARIÑAS, F.; CABRERA-GÓMEZ, C.G.; PALLARES, F.J.; RAMIS, G. Weaning causes a prolonged but transient change in immune gene expression in the intestine of piglets. **Journal of animal science**, v. 99, n. 4, skab065, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jas/skab065>>. Acesso em: 22/01/2023.
- HANCZAKOWSKA, E.; SZEWCZYK, A.; SWIATKIEWICZ, M.; OKOŃ, K. Short- and medium-chain fatty acids as a feed supplement for weaning and nursery pigs. **Polish journal of veterinary sciences**, v. 16, n. 4, p. 647–654, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.2478/pjvs-2013-0092>>. Acesso em: 10/04/2023.
- HEO, J.M.; OPAPEJU, F.O.; PLUSKE, J.R.; KIM, J.C.; HAMPSON, D.J.; NYACHOTI, C.M. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 97, n. 2, p. 207–237, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01284.x>>. Acesso em: 18/11/2022.
- KANSAS STATE UNIVERSITY. **Acidifiers**. Kansas State University, Department of Animal Sciences and Industry, 2022. Disponível em: <[https://www.asi.k-state.edu/extension/swine/swinenutritionguide/general\\_nutrition\\_principles/acidifiers.html](https://www.asi.k-state.edu/extension/swine/swinenutritionguide/general_nutrition_principles/acidifiers.html)>. Acesso em: 22/11/2022.
- KIL, D.Y.; KWON, W.B.; KIM, B.G. Dietary acidifiers in weanling pig diets: a review. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 24, n. 3, p. 231-247, 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-06902011000300002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902011000300002&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 22/01/2023.
- LEE, J.; KIM, J. W.; HALL, H.; NYACHOTI, C.M. Effect of dietary organic acids supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and gut morphology in weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 102, n. 2, p. 255-265, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1139/cjas-2021-0080>>. Acesso em: 22/03/2023.

- LEKAGUL, A.; TANGCHAROENSATHIEN, V.; YEUNG, S. Patterns of antibiotic use in global pig production: a systematic review. **Veterinary and Animal Science**, 7, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vas.2019.100058>>. Acesso em: 02/02/2023.
- LINGBEEK, M.M.; BOREWICZ, K.; FEBERY, E.; HAN, Y.; DOELMAN, J.; KUIJK, S.J.A.V. Short-chain fatty acid administration via water acidifier improves feed efficiency and modulates fecal microbiota in weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v. 99, n. 11, skab307, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jas/skab307>>. Acesso em: 10/12/2022.
- LIU, Y.; ESPINOSA, C.D.; ABELILLA, J.J.; CASAS, G.A.; LAGOS, L.V.; LEE, S.A.; KWON, W.B.; MATHAI, J.K.; NAVARRO, D.M.D.L.; JAWORSKI, N.W.; STEIN, H.H. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 113-125, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.01.007>>. Acesso em: 10/04/2023.
- MROZ, Z. Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. **Advances in Pork Production**, v. 16, p. 169-182, 2005. Acesso em: 18/11/2022.
- NGUYEN, D.H.; SEOK, W.J.; KIM, I.H. Organic Acids Mixture as a Dietary Additive for Pigs-A Review. **Animals**, v. 10, n. 6, 952, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ani10060952>>. Acesso em: 20/02/2023.
- NOWAK, P.; ZAWORSKA-ZAKRZEWSKA, A.; FRANKIEWICZ, A.; KASPROWICZ-POTOCKA, M. The effects and mechanisms of acids on the health of piglets and weaners – a review. **Annals of Animal Science**, v. 21, p. 433–455, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0088>>. Acesso em: 22/03/2023.
- OLIVEIRA, J.M.; MENDES, A.R.; MONTES, J.H.; ALVES, B.R.; MOREIRA, F.; BIANCHI, I.; SCHWEGLER, E.; PERIPOLLI, V. Acidifiers blend on digestibility, blood metabolites and performance of nursery piglets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 74, n. 1, p. 185-194, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-12464>>. Acesso em: 10/04/2023.
- PARTANEN, K.H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v. 12, n. 117, e45, 1999.
- PAPATSIROS, V.G.; BILLINIS, C. **The prophylactic use of acidifiers as antibacterial agents in swine**. In: BOBBARALA, V. (Ed.). *Antimicrobial agents*. London: IntechOpen, 2012. p. 295-310. Disponível em: <<https://doi.org/10.5772/32278>>. Acesso em: 18/11/2022.
- PEARLIN, B.V.; MUTHUVEL, S.; GOVIDASAMY, P.; VILLAVAN, M.; ALAGAWANY, M.; RAGAB FARAG, M.; DHAMA, K.; GOPI, M. Role of acidifiers in livestock nutrition and health: A review. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 104, n. 2, p. 558–569, 2020. Disponível em:



<<https://doi.org/10.1111/jpn.13282>>. Acesso em: 05/02/2023.

PIÉ, S.; LALLÈS, J. P.; BLAZY, F.; LAFFITTE, J.; SÈVE, B.; OSWALD, I. P. Weaning Is Associated with an Upregulation of Expression of Inflammatory Cytokines in the Intestine of Piglets. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 3, p. 641–647, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jn/134.3.641>>. Acesso em: 08/04/2023.

REY, A. I.; LÓPEZ-BOTE, C. J.; LITTA, G. Effects of dietary vitamin E (DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate) and vitamin C combination on piglets oxidative status and immune response at weaning. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 26, n. 3, p. 226-235, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.22358/jafs/76595/2017>>. Acesso em: 07/02/2023.

SANTOS, G.A.; SILVA, A.S.; RIBEIRO JUNIOR, V.; DE OLIVEIRA, C.J.P.; DO VALE, P.A.C.B.; ZANCANELA, V.T.; BRITO, C.O.; ROCHA, G.C. Impact of weaning type on piglets: literature. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 92351–92366, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.34117/bjdv7n9-413>>. Acesso em: 22/01/2023.

SILVEIRA, H.; AMARAL, L.; GARBOSSA, C.; RODRIGUES, L.M.; SILVA, C.; CANTARELLI, V. S. Benzoic acid in nursery diets increases the performance from weaning to finishing by reducing diarrhoea and improving the intestinal morphology of piglets inoculated with *Escherichia coli* K88. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 102, n. 6, p. 1675–1685, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jpn.12977>>. Acesso em: 18/11/2022.

STELLA, A.E.; OLIVEIRA, A.F.; MOREIRA, C.N.; VIALI, K.G.; Uso de antimicrobianos na suinocultura: Indicações e Restrições. **Veterinária e Zootecnia**, v. 27, p. 1-14, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.35172/rvz.2020.v27.492>>. Acesso em: 02/04/2023.

SUIRYANRAYNA, M.V.; RAMANA, J.V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 45, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40104-015-0042-z>>. Acesso em: 16/12/2022.

TUGNOLI, B.; GIOVAGNONI, G.; PIVA, A.; GRILLI, E. From acidifiers to intestinal health enhancers: How organic acids can improve growth efficiency of pigs. **Animals**, v. 10, n. 1, p. 134. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ani10010134>>. Acesso em: 26/03/2023.

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**, v. 85, p. 459–467, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/jas.2005-630>>. Acesso em: 12/03/2023.

WANG, Y.; KUANG, Y.; ZHANG, Y.; SONG, Y.; ZHANG, X.; LIN, Y.; CHE, L.;

- XU, S.; WU, D.; XUE, B.; FANG, Z. Rearing conditions affected responses of weaned pigs to organic acids showing a positive effect on digestibility, microflora and immunity. **Animal Science Journal**, v. 87, n. 10, p. 1267–1280, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/asj.12544>>. Acesso em: 20/01/2023.
- WANG, H.; LONG, W.; CHADWICK, D.; ZHANG, X.; ZHANG, S.; PAIO, X.; HOU Y. Dietary acidifiers as an alternative to antibiotics for promoting pig growth performance: A systematic review and meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 289, n. 115320, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115320>>. Acesso em: 19/12/2022.
- WENSLEY, M.R.; TOKACH, M.D.; WOODWORTH, J.C.; GOODBAND, R.D.; GEBHARDT, J.T.; DEROUCHÉY, J.M.; MCKILLIGAN, D. Maintaining continuity of nutrient intake after weaning. II. Review of post-weaning strategies. **Translational animal science**, v. 5, n. 1, txab022, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/tas/txab022>>. Acesso em: 23/02/2023.
- XU, Q.-L.; LIU, C.; MO, X.-J.; CHEN, M.; ZHAO, X.-L.; LIU, M.-Z.; WANG, S.-B.; ZHOU, B.; ZHAO, C.-X. Drinking water supplemented with acidifiers improves the growth performance of weaned pigs and potentially regulates antioxidant capacity, immunity, and gastrointestinal microbiota diversity. **Antioxidants**, v. 11, p. 809, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/antiox11050809>>. Acesso em: 06/04/2023.
- YANG, Y.; LEE, K.Y.; KIM, I.H. Effects of dietary protected organic acids on growth performance, nutrient digestibility, fecal microflora, diarrhea score, and fecal gas emission in weanling pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 99, n. 3, p. 514-520, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0159>>. Acesso em: 24/03/2023.
- ZHENG, L.; DUARTE, M.E.; SEVAROLLI LOFTUS, A.; KIM, S.W. Intestinal Health of Pigs Upon Weaning: Challenges and Nutritional Intervention. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, n. 628258, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.628258>>. Acesso em: 16/12/2022.

### 3 ACIDIFICAÇÃO CONTÍNUA DA ÁGUA DE BEBIDA DE LEITÕES DESMAMADOS: EFEITOS NO DESEMPENHO E SAÚDE

**Resumo:** Os leitões, no período pós desmame, ficam susceptíveis a infecções entéricas e uma alternativa ao uso de antibióticos nas rações é a inclusão de acidificantes na água de bebida. Portanto, objetivou-se avaliar os efeitos da acidificação contínua da água de bebida através do uso de um produto à base de acidificantes reguladores de acidez da sobre o desempenho zootécnico, morfometria e microbioma intestinais, biometria de órgãos digestórios e não digestórios, gasometria sanguínea e perfil bioquímico e antioxidante sanguíneo em leitões de creche, além da avaliação do potencial de oxirredução da água. O estudo foi conduzido em uma granja comercial, com 1.080 leitões, híbridas de linhagem comercial ( $6,81 \pm 0,29$  kg), designados em um delineamento experimental inteiramente casualizado, constituído por três tratamentos: (1) pH<sub>7,39</sub> - pH da água natural em 7,39 (controle); (2) pH<sub>5,31</sub> - pH da água de bebida acidificada em 5,31 e (3) pH<sub>3,40</sub> - pH da água de bebida acidificada em 3,40, com oito repetições por tratamento e 45 leitões por baía como a unidade experimental. O produto comercial utilizado era composto à base de ácido ascórbico (450,00 mg/kg), ácido cítrico (13,00 g/kg), ácido fosfórico (773,50 g/kg), fosfato monossódico (400,00 mg/kg), nucleotídeos, aminoácidos e palatilizantes. O período experimental teve duração de 30 dias. Os diferentes níveis de acidificação na água promovem maior potencial de oxirredução conforme decréscimo do pH da água. Não houve efeito da acidificação na água sobre o desempenho zootécnico. O consumo hídrico na fase pré-inicial foi maior conforme a redução do pH da água e na fase inicial II, o grupo sem acidificantes teve o maior consumo hídrico médio por animal. Os animais que receberam água de bebida com menor pH (pH<sub>3,40</sub>) tiveram redução nos valores plasmáticos de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Não houve influência da acidificação da água de bebida em fase de creche ( $p > 0,05$ ) na gasometria sanguínea de leitões, nem sobre o comprimento do intestino delgado ( $p > 0,05$ ). Foi observada diferença entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) nas concentrações de proteínas totais, em que aquele com pH<sub>3,40</sub> da água de bebida apresentou menor concentração de proteínas. O tratamento com pH<sub>3,40</sub> da água de bebida apresentou as maiores profundidades das criptas do jejuno e teve a menor relação altura das vilosidades: profundidade das criptas do jejuno. O melhor perfil de colonização

bacteriana foi obtido nos animais tratados com água acidificada com pH<sub>3,40</sub>, favorecendo bactérias benéficas como *Lactobacillus* e demais bactérias do Filo Firmicutes, e inibindo as da família *Enterobacteriaceae*. A acidificação da água de bebida dos leitões para pH<sub>3,40</sub> utilizando um produto comercial à base de ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido fosfórico e fosfato monossódico, nucleotídeos e realçadores de sabor, proporciona aumento do potencial de oxirredução da água, promove maior peso de órgãos com funções metabólicas e imune, promove redução da mortalidade e alterações no perfil sanguíneo, modula beneficemente a microbiota mostrando capacidade de redução da carga fecal de *E. coli*.

**Palavras-chave:** Aditivo ácido, microbiota intestinal, oxirredução, pH

## CONTINUOUS ACIDIFICATION OF WEANED PIGLETS DRINKING WATER: EFFECTS ON PERFORMANCE AND HEALTH

**Abstract :** Post-weaning piglets are susceptible to enteric infections, so an alternative to the use of antibiotics in feed is the addition of acidifiers to the drinking water. Therefore, the aim was to evaluate the effects of continuous acidification of drinking water through the use of a product based on acidifiers that regulate the acidity of drinking water on zootechnical performance, intestinal morphometry and microbiome, biometry of digestive and non-digestive organs, gasometry blood profile and blood biochemical and antioxidant profile in nursery piglets, in addition to the evaluation of the redox potential of water. The study was conducted in a commercial farm, with 1,080 female piglets, hybrids of commercial lineage ( $6.81 \pm 0.29$  kg), distributed in an completely randomized design, consisting of three treatments: (1) pH<sub>7.39</sub> - natural water pH at 7.39 (control); (2) pH<sub>5.31</sub> - pH of acidified drinking water at 5.31 and (3) pH<sub>3.40</sub> - pH of acidified drinking water at 3.40, with eight replicates per treatment and 45 piglets per pen as the experimental unit. The commercial product used was composed of ascorbic acid (450.0 mg/kg), citric acid (13.00 g/kg), phosphoric acid (773.50 g/kg) and monosodium phosphate (400.00 mg/kg), nucleotides, amino acids and palatabilizers. The experimental period lasted 30 days. The different levels of acidification in the water promote a greater redox potential as the pH of the water decreased. There was no effect of water acidification on zootechnical performance. The water consumption in the pre-initial phase was higher as the pH of the water decreased and in the initial phase II, the group without acidifiers had the highest average water consumptions per animal. Animals that received drinking water with a lower pH (pH<sub>3.40</sub>) had a reduction in plasma levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). There was no influence of the acidification of the drinking water in the nursery phase ( $p > 0.05$ ) on the blood gas analysis of piglets or on the length of the small intestine ( $p > 0.05$ ). Differences were observed between treatments ( $p < 0.05$ ) in total protein concentrations, with drinking water pH<sub>3.40</sub> having the lowest protein concentration. The treatment with pH<sub>3.40</sub> of the drinking water showed the greatest depths of the jejunal crypts and had the lowest villus height: depth of the jejunal crypts ratio. The best bacterial colonization profile was observed in animals treated with acidified water at pH<sub>3.40</sub>, favoring beneficial bacteria such as *Lactobacillus* and other

bacteria of the Phylum Firmicutes, and inhibiting those of the Enterobacteriaceae family. The acidification of the piglets' drinking water to pH<sub>3.40</sub> using a commercial product based on ascorbic acid, citric acid, phosphoric acid and monosodium phosphate, nucleotides and flavor enhancers, provides an increase in the redox potential of water, promotes greater organ weight with metabolic and immune functions, promotes reduction in mortality and changes in the blood profile, as well as beneficially modulates the microbiota, showing the ability to reduce the fecal burden of *E. coli*.

**Keywords:** Acid additive, intestinal microbiota, redox, pH

### 3.1 Introdução

Os leitões passam por mudanças abruptas no período pós-desmame devido à introdução da dieta sólida, hierarquização social e o fim da imunidade lactogênica, refletindo em elevados níveis de estresse (ZHENG et al., 2021; WEI et al., 2021). Esses fatores estressores reduzem o consumo de ração e a digestão de nutrientes, e podem provocar a ocorrência de diarreias. Além disso, a transição do desmame coincide com maior pH estomacal porque a acidificação do estômago via secreção de HCl é reduzida (LINGBEEK et al., 2021), atribuída à imaturidade do sistema digestório e mudanças dietéticas. Isso contribui para a suscetibilidade dos leitões às infecções entéricas e compromete a atividade da pepsina no estômago (ativa apenas em meio ácido), reduzindo a digestão proteica (NOWAK et al., 2021) e, conseqüentemente, o desempenho zootécnico é prejudicado (CANIBE et al., 2022).

Nesse contexto, a adição de acidificantes na água de bebida é uma alternativa em potencial para melhorar resultados na produção, principalmente em fase de creche, assim como é uma estratégia para a redução no uso de antibióticos em dietas para leitões desmamados (PEARLIN et al., 2020). Em resumo, os ácidos orgânicos e inorgânicos são substâncias acidificantes com papel benéfico no desempenho devido à redução do pH e da sua ação antimicrobiana (NGUYEN; SEOK; KIM, 2020). Eles promovem maior taxa de crescimento e redução da mortalidade em leitões desmamados, melhorando a capacidade antioxidante e da microbiota intestinal (XU et al., 2022). Fundamentado nisso, o uso de acidificantes via água proporciona maior ingestão e quantidade de ácidos alcançando o trato gastrointestinal do animal, permitindo que a dosagem de ácidos possa ser alterada (ESCUREDO et al., 2016).

Além disso, alguns ácidos (por exemplo, o ácido cítrico que tem sabor agradável) quando fornecidos em dosagens corretas, via água de bebida, têm efeito inibitório nos microrganismos e promovem melhorias no cheiro e palatabilidade, estimulando o consumo de ração (NOWAK et al., 2021). Especificamente, os ácidos orgânicos (ascórbico e cítrico) e inorgânico (fosfórico), quando combinados, atuam em diferentes porções do trato gastrointestinal do leitão e podem ser fornecidos via água e/ou na dieta, com propriedades antioxidantes ou de redução do pH estomacal (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). Nesse sentido, a forma dissociada do ácido é responsável por reduzir o pH do meio e favorecer as funções digestórias, bem como

conferir efeito bacteriostático (NGUYEN; SEOK; KIM, 2020), enquanto a indissociada garante a efetividade antimicrobiana do produto, exercendo efeito bactericida (DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017).

Coletivamente, Lingbeek et al. (2021) constataram que a ingestão de ácidos graxos de cadeia curta livres e tamponados na água modificou benéficamente a microbiota e melhorou a eficiência alimentar de leitões. Também, Busser et al. (2011) mostraram que a redução do pH da água de bebida usando uma mistura de ácidos orgânicos (ácido láctico, fórmico, propiônico e acético) para leitões recém-desmamados reduziu a carga de *Escherichia coli* na excreção fecal e a ocorrência de diarreias pós-desmame. Xu et al. (2022) verificaram que a adição de um acidificante (19% ácido fórmico + 19% ácido acético + 3,5% ácido propiônico + 15% ácido láctico) na água de bebida de leitões desmamados melhorou significativamente o crescimento, a microbiota intestinal e capacidade antioxidante total sérica.

No entanto, a compreensão dos efeitos do uso de acidificantes comerciais na água de bebida para leitões desmamados ainda é limitada. Dessa forma, a hipótese da presente pesquisa é de que a adição do acidificante na água de bebida para leitões desmamados pode reduzir o pH do trato gastrointestinal e exercer ação antimicrobiana, potencializando a capacidade antioxidante sanguínea para melhora do desempenho zootécnico. Portanto, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos da adição de uma mistura comercial de ácidos orgânicos e inorgânicos via água de bebida sobre o potencial de oxirredução da água, desempenho zootécnico, perfis bioquímico, de gasometria e antioxidante sanguíneos, morfometria intestinal, biometria de órgãos digestórios e não digestórios, e microbioma intestinal de leitões em fase de creche alimentados com dietas comerciais.

### 3.2 Material e métodos

O protocolo de pesquisa (número 02/2022) foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste). Todos os métodos foram realizados de acordo com as diretrizes e regulamentos pertinentes às diretrizes ARRIVE 2.0 (<https://arriveguidelines.org/arrive-guidelines>). O estudo foi conduzido em uma granja experimental.



### 3.2.1 Animais, delineamento experimental e alojamento

Previamente ao período experimental, os animais tiveram três dias de adaptação ao ambiente de alojamento, alimentados com uma dieta comercial basal, seguido de 30 dias de avaliação. O experimento envolveu 1.080 leitões, todas fêmeas, híbridos de linhagem comercial (Landrace x Large White, desmamados aos 26 dias de idade, pesando  $6,81 \pm 0,29$  kg, e originados em cinco granjas distintas) designados aleatoriamente em um delineamento experimental inteiramente casualizado, constituído por três tratamentos de oito repetições de baias. Um total de 45 leitões foram alocados por baia como unidade experimental.

Os leitões foram identificados e alojados em uma instalação de alvenaria, coberta com telhas de fibrocimento e forro, com baias suspensas (4,00 m × 4,00 m) e piso de plástico vazado de polietileno, dispostas em duas fileiras e divididas por um corredor central. Cada baia era equipada com comedouro automático central e bebedouros pendulares na proporção de uma chupeta para até 12 leitões.

A temperatura ambiente do ar da instalação foi registrada em temperatura mínima de 19,3°C e máxima de 36,3°C, com média de 26,8°C durante o período experimental, utilizando-se um termômetro digital com sensor externo (marca Asko, modelo Ak23, São Leopoldo, RS, Brasil), enquanto a umidade relativa do ar média foi de 72%, com mínima de 42% e máxima de 92%. A ventilação da instalação foi proporcionada de maneira natural com o auxílio de um dispositivo de controle automático das cortinas (marca Greenfeel, modelo Atom-2, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil). Esse dispositivo regula a altura das cortinas conforme a direção do vento e/ou temperatura ambiente interna, ou conforme o tempo programado para não haver acúmulo de gases dentro da instalação. O aquecimento das baias foi realizado por equipamentos a gás (turbinas a gás Big Dutchman, Araraquara, SP, Brasil). O fornecimento de luz consistiu no fotoperíodo natural.

No 9º dia de experimentação, os animais receberam a segunda dose das vacinas imunizantes contra os agentes patogênicos *Streptococcus suis* sorotipo 9 (Govaxx® - Vaxxinova, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil) e *Glaesserella parasuis* (Hipra Glasser®, Laboratório Hipra S.A., Porto Alegre, RS, Brasil), fornecidas e aplicadas pela empresa integradora da unidade de produção.

Os manejos de medicações de animais doentes foram mantidos de acordo com

o recomendado pela equipe técnica da empresa integradora, sem causar interferência durante a condução do estudo.

### 3.2.2 Tratamentos experimentais, acidificantes, potencial de oxirredução da água de bebida e dietas

Os tratamentos testados foram constituídos por 1): pH natural da água de bebida em 7,39 (pH<sub>7,39</sub>) como grupo controle, 2): pH da água de bebida acidificada em 5,31 (pH<sub>5,31</sub>), e 3): pH da água de bebida acidificada em 3,40 (pH<sub>3,40</sub>). O produto comercial adicionado como acidificante foi um aditivo regulador de acidez para água de bebida (pHPerfect Acid<sup>®</sup>, American Nutrients do Brasil Indústria e Comércio Ltda., Teutônia, RS, Brasil) à base de ácido ascórbico com pKa de 4,17 (450 mg/kg de produto); ácido cítrico com pKa 1 de 3,15, pKa 2 de 7,1, e pKa 3 de 6,4 (13 g/kg); ácido fosfórico com pKa 1 de 2,15, pKa 2 de 7,1, e pKa 3 de 12,4 (773,5 g/kg); tamponante fosfato monossódico (400 mg/kg) e nucleotídeos (inosinato e guanilato).

A acidificação da água de bebida foi realizada por meio de bombas dosadoras automáticas (Exatta, modelo EXD, série digital, Palhoça, SC, Brasil). A quantidade de ácido utilizada em cada tratamento foi de acordo com o necessário para manter o pH estabelecido. Essa dosagem foi realizada automaticamente por uma bomba dosadora no boiler de mistura. Toda água utilizada na granja foi clorada (com concentrações entre 1 a 3 ppm) via dosador clorador automático de alta pressão (Kobra<sup>®</sup> 11/2'', Londrina, PR, Brasil), dentro do intervalo de 0,2 a 5 ppm, seguindo as recomendações da Portaria nº 888 de 2021, do Ministério da Saúde do Brasil. Diariamente era realizada a aferição do percentual de cloro disponível na água. Para garantir os valores exatos da acidificação e cloração da água em cada baía, as leituras de pH e cloro da água foram realizadas diariamente a cada 12 horas (06h00 e 18h00), aferindo-se uma chupeta por baía. A aferição da cloração era feita no registro de água da granja antes da entrada da água nos tratamentos correspondentes.

O potencial de oxirredução da água (ORP) e pH da água foram mensurados duas vezes ao dia (06h00 e 18h00), utilizando um medidor de ORP portátil (Akso AK60, São Leopoldo, RS, Brasil) e de pH portátil (Asko AK90, São Leopoldo, RS, Brasil), respectivamente. Os valores de pH e de ORP de cada baía foram registrados para

calcular a média de cada baia e tratamento ao final do período experimental.

As dietas peletizadas foram fornecidas pela empresa integradora (Cooperativa Agroindustrial Copagril, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil), formuladas à base de milho e farelo de soja e suplementadas com aminoácidos industriais, próximas aos limites das exigências nutricionais propostas por Rostagno et al. (2017). Os animais tiveram acesso *ad libitum* à dieta e água durante todo o período experimental, que foi dividido em três fases experimentais (Tabela 2): 1) pré-inicial (1 a 9 dias), 2) inicial I (10 a 15 dias) e 3) inicial II (16 a 30 dias). Os leitões foram alimentados com diferentes regimes alimentares em cada fase.

A dieta utilizada durante a experimentação foi fornecida pela empresa integradora da granja e continha antibióticos e ingredientes que não foram alterados durante a condução do presente estudo, pois o propósito era avaliar a inclusão do produto testado à base de ácidos orgânicos e inorgânicos via água de bebida, de forma contínua, dentro da realidade da granja.

**Tabela 2.** Composição das dietas comerciais fornecidas aos leitões de creche (como base alimentada, g/kg)

Item	Fases experimentais		
	Pré-inicial	Inicial I	Inicial II
<b>Ingredientes</b>			
Milho moído, 7,86% de PB	391,0	503,0	648,5
Farelo de soja, 45,4% de PB	160,0	220,0	280,0
Açúcar	30,0	-	-
Aglutinante	-	-	1,50
Óleo de soja degomado	15,0	20,0	15,0
Concentrado 40% <sup>1</sup>	400,0	-	-
Concentrado 25% <sup>2</sup>	-	250,0	50,0
Premix pré-inicial <sup>3</sup>	4,0	-	-
Aditivo dysantic®	-	1,0	1,0
Premix inicial I <sup>4</sup>	-	6,0	-
Premix inicial II <sup>5</sup>	-	-	4,0
<b>Composição química calculada</b>			
Energia metabolizável, kcal/kg	3.434,0	3.412,0	3.336,0
Proteína bruta, g/kg	219,2	219,0	188,6
Fibra bruta, g/kg	15,3	20,8	24,3
Lisina digestível, g/kg	13,3	13,1	12,1
Met + Cis digestível, g/kg	7,7	7,3	7,2
Treonina digestível, g/kg	8,4	8,3	7,8
Triptofano digestível, g/kg	2,3	2,1	2,1
Valina digestível, g/kg	9,0	8,9	8,1
Cálcio total, g/kg	8,6	7,9	5,6
Fósforo disponível, g/kg	5,2	5,4	4,4
Sódio, g/kg	39,3	34,0	29,4
Lactose, g/kg	100,0	50,0	-
Extrato etéreo, g/kg	68,0	60,1	46,4
Equilíbrio ácido-básico mEq/kg	222,1	219,2	214,6
<b>Composição química analisada</b>			
Energia bruta, kcal/kg	4.204,0	4.212,0	4.108,0
Proteína bruta, g/kg	213,2	216,7	182,1
Cálcio total, g/kg	5,9	5,3	3,9
Fósforo total, g/kg	5,9	5,5	6,1
Extrato etéreo, g/kg	64,3	50,9	44,0

<sup>1,3</sup>Conteúdo por kg de dieta: proteína bruta (mín) 200,00 g, extrato etéreo (mín) 40,00 g, fibra bruta (máx) 30,00 g, matéria mineral (máx) 150,00 g, nucleotídeo 60,00 mg, umidade (máx) 130,00 g, carvacrol 24,00 mg, carnitina (mín) 98,00 mg, lisina (mín) 13,40 g, metionina (mín) 4.400,00 mg, treonina (mín) 8.800,00 mg, triptofano (mín) 2.600,00 mg, valina (mín) 9.200,00 mg, cálcio (mín) 7.002,00 mg (máx) 8.002,00 mg, cobre (mín) 130,00 mg, cromo (mín) 0,40 mg, ferro (mín) 99,00 mg, fósforo (mín) 6.000,00 mg, iodo (mín) 1,50 mg, manganês (mín) 59,90 mg, selênio (mín) 0,63 mg, sódio (mín) 3.500,00 mg, zinco (mín) 2.500,00 mg, ácido Fólico (mín) 1,26 mg, ácido pantotênico (mín) 36,00 mg, biotina (mín) 0,36 mg, colina (mín) 720,00 mg, niacina (mín) 63,00 mg, vitamina A (mín) 9.900,00 UI, vitamina B<sub>1</sub> (mín) 4,50 mg, vitamina B<sub>12</sub> (mín) 54,00 mcg, vitamina B<sub>2</sub> (mín) 11,70 mg, vitamina B<sub>6</sub> (mín) 6,30 mg, vitamina D<sub>3</sub> (mín) 3.150,00 UI, vitamina E (mín) 45,00 UI, vitamina K (mín) 5,40 mg, ácido butírico 1.094,40 mg, ácido fosfórico 550,00 mg, ácido fumárico 7.960,00 mg, *Bacillus licheniformis* 640,00 × 10<sup>6</sup> UFC, *Bacillus subtilis* 640,00 × 10<sup>6</sup> UFC, beta mananase 64.000,00 U, fitase 2.000,00 FTU, mananoligossacarídeos 68,00 mg, protease 3.000,00 U, clorhidroxiquinolona 119,99 mg, amoxicilina 400,00 mg, cloridrato de clortetraciclina 350,00 mg, sulfametazina 262,50 mg, trimetoprim 52,50 mg. <sup>2,4</sup>Conteúdo por kg de dieta: proteína bruta 210 g, umidade 130 g; fibra bruta 25 g; matéria mineral 55 g; extrato etéreo 60 g, amoxicilina 400 mg; sulfato de colistina 200 mg; cobre 204,9 mg, ferro 103,9 mg, iodo 1,55 mg, manganês 62,5 mg, selênio 633 mcg, zinco 5.310 mg, carvacrol 1 mg, nucleotídeos 37,5 mg, carnitina 100 mg, lisina 6,62 g, metionina 2.375 mg, treonina 4,07 g, triptofano 1.050

mg, cálcio 5,57 g, fósforo 3.750 mg, cromo 400 mcg, sódio 3.250 mg, ácido fólico 1,12 mg, ácido pantotênico 32 mg, biotina 320 mcg, colina 720 mg, niacina 56 mg, vitamina A 8.800 UI, vitamina B<sub>1</sub> 4 mg, vitamina B<sub>12</sub> 48 mcg, vitamina B<sub>2</sub> 10,4 mg, vitamina B<sub>6</sub> 5,6 mg, vitamina D<sub>3</sub> 2.800 UI, vitamina E 40 UI, vitamina K<sub>3</sub> 4,8 mg, ácido fumárico 6,25 g, *Bacillus licheniformis* 640 × 10<sup>6</sup> UFC, *Bacillus subtilis* 640 × 10<sup>6</sup> UFC, beta-mananase 64.000 U, celulase 22,5 U, fitase 500 FTU, protease 3.750 U, clorohidroquinolina 120 mg, extrato de tomilho 19 mg, farinha de alfarroba 7,1 mg. <sup>2,5</sup>Conteúdo por kg de dieta: proteína bruta 185 g, umidade 130 g, fibra bruta 30 g, matéria mineral 50 g, extrato etéreo 40 g, amoxicilina 400 mg, ivermectina 2 mg, tiamulina 176 mg, cobre 202 mg, ferro 97 mg, iodo 21,42 mg, manganês 58 mg, selênio 524,5 mcg, zinco 143,9 mg, carvacrol 1 mg, nucleotídeos 37,5 mg, carnitina 100 mg, lisina 3.750 mg, metionina 1.825 mg, treonina 2.045 mg, triptofano 364 mg, cálcio 3,75 g, cromo 400 mcg, fósforo 2.000 mg, sódio 2.750 mg, ácido fólico 910 mcg, ácido pantotênico 26 mg, biotina 259,5 mcg, colina 500 mg, niacina 45,5 mg, vitamina A 7150 UI, vitamina B<sub>1</sub> 3,25 mg, vitamina B<sub>12</sub> 39 mcg, vitamina B<sub>2</sub> 8,45 mg, vitamina B<sub>6</sub> 4,55 mg, vitamina D<sub>3</sub> 2250 UI, vitamina E 32,5 UI, vitamina K<sub>3</sub> 3,89 mg, ácido cítrico 10,05 mg, ácido fumárico 2,9g, ácido propiônico 876 mcg, beta-mananase 64000 U, celulase 22,5 U, fitase 500 FTU, protease 3750 U, clorohidroquinolina 120 mg, extrato de tomilho 19 mg, farinha de alfarroba 28,5 mg.

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

### 3.2.3 Análise das dietas

A composição química das amostras de dietas ( $\cong$  200 g) foi analisada conforme descrito pela AOAC (2019). As amostras foram combinadas por fase e secas em uma estufa de ar forçado (marca Tecnal, modelo SF-325 NM; Piracicaba, SP, Brasil) a 55°C durante 72 h. Todas as amostras foram moídas em um moinho tipo micro pulverizador (Solab, modelo SL-38; São Paulo, SP, Brasil), e armazenadas em recipientes plásticos identificados. A matéria seca foi determinada de acordo com o método nº 930.15. A proteína bruta foi determinada pelo procedimento Kjeldahl, seguindo o método nº 984.13, cálcio (método 968.08) e fósforo (método 931.01). O extrato etéreo foi determinado de acordo com o método no. 920.39. A energia bruta foi determinada no laboratório de nutrição animal usando uma bomba calorimétrica (IKA<sup>®</sup>, modelo C200, Wilmington, Carolina do Norte, EUA).

### 3.2.4 Desempenho zootécnico e mortalidades

Os leitões foram pesados em grupos nos dias 1, 9, 15 e 30 do experimento com o auxílio de uma balança digital (Modelo UL-50, Marca DIGI-TRON, Curitiba, Brasil) para monitoramento do peso corporal inicial (PCI), peso corporal final (PCF) (kg) e cálculo do ganho de peso diário (GPD) (kg/dia). A dieta fornecida diariamente, as sobras e os desperdícios no comedouro foram quantificados nos dias 9, 15 e 30 para calcular o consumo de ração diário médio (CRDM) (kg/dia). De posse desses dados, a eficiência alimentar para ganho (EA) (kg/kg) foi calculada por meio do GPD:CMDR.

Para avaliação da mortalidade, os óbitos foram anotados conforme a baía e o tratamento correspondente, e o animal era retirado e pesado para correção dos dados de desempenho zootécnico, de acordo com equações adaptadas de Sakomura e Rostagno (2016).

### 3.2.5 Perfis bioquímico, de gasometria e antioxidante sanguíneos

Ao final da fase inicial II (no dia 29, 08h30, sem jejum), 24 leitões de cada tratamento (três por repetição) foram selecionadas para a colheita de sangue baseado no peso corporal mais próximo à média na baía. Um total de 20 mL de sangue foi colhido via punção da veia cava cranial anterior, usando seringas descartáveis e agulhas de calibre  $0,70 \times 30$  mm. Então, o sangue foi acondicionado, individualmente, em tubos de ensaio de vidro  $16 \times 100$  mm, 10 mL (Perfecta Labimport, Piracicaba, SP, Brasil), devidamente identificados, contendo fluoreto de potássio para análise de concentrações de glicose; heparina para determinar as concentrações de ureia, colesterol, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gasometria; e sem anticoagulante para as concentrações de albumina. Os tubos foram identificados e alocados dentro de uma caixa de isopor contendo gelo ( $\cong 4^\circ\text{C}$ ).

As amostras sanguíneas para análise de gasometria (oito animais de cada tratamento) foram enviadas a um laboratório privado (UNILAB, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil) e determinadas em um analisador hematológico automático (marca Roche, modelo Cobas<sup>®</sup> b 123, São Paulo, SP, Brasil) para a quantificação de pressão parcial de oxigênio ( $\text{PO}_2$ ) e de gás carbônico ( $\text{PCO}_2$ ), potencial hidrogeniônico (pH), dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ), balanço eletrolítico (BE), excesso de base no sangue e no fluido extracelular ( $\text{BE}_{\text{ecf}}$ ), bicarbonato de sódio ( $\text{CHCO}_3$ ), conteúdo total de oxigênio ( $\text{CTO}_2$ ), ânion gap (AG), lactato (Lac), potássio ( $\text{K}^+$ ), sódio ( $\text{Na}^+$ ), hematócrito (Hct), hemoglobina (Hb), cloro (Cl) e cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ).

Para as demais análises sanguíneas, as amostras foram centrifugadas (centrífuga analógica 80-2B, Centrilab, Cedral, São Paulo, Brasil) à 3.000 rpm por 10 min em temperatura ambiente. Em seguida,  $\cong 3$  mL do sobrenadante de cada tubo foi coletado com o auxílio de uma micropipeta e transferido para tubos de polietileno tipo eppendorf, em duplicata técnica, e armazenados em freezer a  $-20^\circ\text{C}$ . As análises de

albumina (método colorimétrico, ref. 419), ALT (método cinético ref. 422), ureia (método enzimático-colorimétrico, ref. 427E) e glicose (método enzimático-colorimétrico, ref. 112E) foram determinadas por espectrofotometria (modelo Bel SPECTRO S05, marca Bel Engineering, Monza, LOM, Itália) no laboratório de análises sanguíneas da Unioeste, utilizando-se kits comerciais específicos da marca Gold Analisa Diagnostica® (Belo Horizonte, MG, Brasil).

As amostras séricas do sangue foram armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  e enviadas a um laboratório comercial (IMUNOVA, Curitiba, PR, Brasil), para análises de concentrações de glutathiona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e proteínas totais.

A atividade de GPx com peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) foi determinada de acordo com o método descrito por Regoli e Principato (1995). O meio reacional continha, além da amostra, 1,0 mM de EDTA, 1,0 mM de azida sódica, 1,0 mM de ditioneitol, 0,48 mM de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzido (NADPH), 7,0 mM de GSH, 1 U/mL de glutathiona redutase e 0,50 mM de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em solução tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,0. A reação foi conduzida a  $25^{\circ}\text{C}$ . O consumo de NADPH foi continuamente registrado no espectrofotômetro a 340 nm. A atividade de GPx foi determinada usando o coeficiente de absorvidade milimolar do NADPH ( $\epsilon_{340} = 6,22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). A atividade de GPx foi expressa em  $\mu\text{mol}$  de NADPH consumido por min.

Para as análises da SOD, as amostras foram homogeneizadas em solução tampão fosfato de potássio pH 6,5 e centrifugadas a velocidade de 10.000 g durante 20 min sob uma temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ . A atividade desta enzima foi quantificada através da capacidade da SOD presente no tecido em inibir a auto-oxidação do reagente pirogalol (GAO et al., 1998). Para isso, 60  $\mu\text{L}$  de cada amostra homogeneizada foi adicionada em uma solução contendo 1327,5  $\mu\text{L}$  de tampão Tris HCl (0,4M, pH 8,9). Logo após agitadas em vórtex, foi adicionado 75  $\mu\text{L}$  de solução com pirogalol 15 mM. Após incubação de 30 minutos, em temperatura ambiente, a reação foi interrompida com 37,5  $\mu\text{L}$  de solução de HCl a 1N. A leitura foi feita em leitor de microplaca a 440 nm. A quantidade de enzima que inibiu a reação em 50% ( $\text{IC}_{50}$ ) foi definida como uma unidade de SOD, e a atividade da enzima foi expressa em unidades de SOD por miligrama de proteína total ( $\text{U SOD.mg proteína}^{-1}$ ).

A quantificação de proteínas nas amostras foi feita em microplacas, utilizando

albumina bovina como padrão (BRADFORD, 1976). Foram utilizados 10  $\mu$ L da amostra (homogeneizadas em tampão fosfato de potássio, pH 6,5, centrifugadas em 10,000 g, sob temperatura de 4°C, durante 20 min, diluídas 1:10) em cada poço da microplaca, que reagiram com 250  $\mu$ L de solução de Bradford. A leitura foi realizada em leitor de microplaca, a 595 nm. A concentração encontrada de proteínas foi expressa em mg de proteína<sup>-1</sup> utilizada para o cálculo dos parâmetros anteriores, que são expressas na concentração de enzimas por miligrama de proteína total.

### 3.2.6 Procedimentos de abate e morfometria intestinal

No dia 30 de experimentação, um total de 15 animais por tratamento foram selecionados aleatoriamente (14 animais oriundos de sete baias, ou seja, dois leitões dentro da mesma baia, e um animal oriundo da baia restante, totalizando 45 animais) para abate e colheita de amostras biológicas. Os animais abatidos não foram os mesmos doadores de sangue. Os animais foram abatidos em um frigorífico comercial regional (Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil), após um período de jejum de 8 a 10h, insensibilizados por eletronarcose (240 volts por 3 segundos) e eutanasiados por exsanguinação (BRASIL, 2018).

Imediatamente após o abate, dois fragmentos de 3 cm foram coletados do jejuno e íleo dos animais abatidos para mensurar a altura de vilosidades (AV), profundidade de criptas (PC) e a relação AV:PC. As amostras de jejuno foram extraídas mensurando 1,5 m da junção ileocecal no sentido cranial do intestino delgado, enquanto do íleo foram extraídas a 15 cm da junção ileocecal no sentido cranial (GRANDO et al., 2023). Após, os fragmentos foram lavados com solução fisiológica (cloreto de sódio 0,9%) e colocados em recipientes plásticos esterilizados, contendo solução preparada de formalina neutra tamponada a 10% (100 mL de formaldeído 37,5%, 900 mL de água destilada, 4 g de fosfato de sódio monobásico e 6,5 g de fosfato de sódio dibásico) (GRANDO et al., 2023). As amostras foram enviadas a um laboratório comercial (Mercolab laboratórios, Cascavel, PR, Brasil) para proceder o emblocamento em parafina, coloração com hematoxilina e eosina, e preparação das lâminas (KRAIESKI et al., 2017).

As análises histológicas foram realizadas por meio de um microscópio óptico



(modelo CX31RTSF, marca Olympus, Tóquio, Japão) e sistema computacional ToupView x86. A leitura da altura de 10 vilosidades e suas respectivas criptas foram realizadas em cada fragmento para calcular a relação AV:PC.

### 3.2.7 Biometria de órgãos digestórios e não digestórios

O estômago, o fígado com vesícula biliar, o intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), e os órgãos não digestórios (coração, baço e rins) foram pesados em uma balança digital (marca Maxon, modelo MX-111, China). O comprimento do intestino delgado foi mensurado utilizando-se uma fita métrica.

### 3.2.8 Microbioma intestinal

Aproximadamente 5g de conteúdo do intestino grosso foi coletado imediatamente após o abate dos animais e transferido para frascos estéreis de coleta universal de 50 mL (marca Jprolab, São José dos Pinhais, PR, Brasil). As amostras foram acondicionadas em uma caixa contendo gelo ( $\cong 4^{\circ}\text{C}$ ) e enviadas para a UNIOESTE, sendo armazenadas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , permanecendo assim até o envio para o laboratório onde foi realizada a análise (IMUNOVA, Curitiba, PR, Brasil). Visando o envio das amostras para análise, estas foram acondicionadas em caixa térmica contendo gelo seco e lacradas, para a manutenção da integridade do gelo seco. Para a extração do DNA das amostras utilizou-se o kit comercial ZR Fecal DNA MiniPrep<sup>®</sup> (Zymo Research, Irvine, Califórnia, Estados Unidos), seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria a 260 nm. Todas as amostras foram analisadas por eletroforese em gel de agarose 1% para avaliar a sua integridade, coradas em brometo de etídio e observadas em câmara com luz ultravioleta (Loccus, LTB-21x26, Cotia, SP, Brasil).

Posteriormente, amplificou-se um segmento de aproximadamente 460 bases da região hipervariável V3V4 do gene ribossomal 16S rRNA, utilizando-se os primers universais. Para a reação de amplificação foram utilizadas as seguintes condições: desnaturação inicial a  $95^{\circ}\text{C}$  por 3 min, 25 ciclos de  $95^{\circ}\text{C}$  por 30 s,  $55^{\circ}\text{C}$  por 30 s e  $72^{\circ}\text{C}$

por 30 s, e amplificação final à 72°C por 5 min.

A partir desses amplificados foi construída a biblioteca metagenômica utilizando-se o kit comercial *Nextera DNA Library Preparation Kit* da Illumina® (San Diego, Califórnia, Estados Unidos). Os amplificados foram reunidos em *pools* e sequenciados em um sequenciador MiSeq™ da Illumina® (DEGNAN; OCHMAN, 2012). As leituras obtidas no sequenciador foram analisadas na plataforma *quantitative insights into microbial ecology* (CAPORASO et al., 2010; 2011), seguindo-se um fluxo de trabalho desde a remoção de sequências de baixa qualidade, filtração, remoção de quimeras e classificação taxonômica. As sequências foram classificadas em gêneros bacterianos por meio do reconhecimento de variantes de sequências de amplicons (ASVs) e, portanto, considerou-se a homologia entre as sequências quando comparadas com uma base de dados. Para comparar as sequências foi utilizada a atualização (SILVA 138) do ano 2019 do banco de dados de sequências ribossomais SILVA database (YILMAZ et al., 2014). Para gerar a classificação das comunidades bacterianas por identificação de ASVs foram utilizadas 23.177 leituras por amostra para normalizar os dados e não comparar amostras com diferentes números de leituras.

### 3.2.9 Procedimentos estatísticos

Antes de avaliar a análise de variância (ANOVA) ou covariância (ANCOVA), foi realizada a detecção de *outliers* (valores maiores ou iguais a três desvio-padrão foram considerados como influentes). A normalidade dos erros experimentais e a homogeneidade de variâncias entre os tratamentos para as variáveis foram avaliadas previamente utilizando-se os testes de Shapiro-Wilk e de Levene, respectivamente. O modelo estatístico incluiu o efeito fixo de tratamento, e erro residual como efeito aleatório. O peso corporal inicial dos leitões foi usado como covariável para os dados de desempenho zootécnico quando significativo ( $p < 0,05$ ). A baía foi considerada a unidade experimental, exceto para os dados de abate em que o animal foi a repetição.

Quando significativos na *one-way* ANOVA ou ANCOVA ( $p < 0,05$ ), as médias entre os tratamentos para as diversas variáveis foram comparadas via teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls. Quando  $0,05 > p < 0,1$  foi declarado como tendência. Essas análises foram realizadas utilizando o *software* estatístico *Statistical Analysis*

*System* (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA).

A identificação de *outliers* para as enzimas antioxidantes foi feita de acordo com o teste de ROUT ( $Q = 1\%$ ). O teste Kruskal-Wallis foi aplicado e quando significativo ( $p < 0,05$ ), as médias entre tratamentos foram comparadas pelo teste de comparações múltiplas de Dunn.

A comparação entre os grupos nas análises de alfa diversidade foi realizada pelo teste não paramétrico de Wilcoxon, com  $p < 0,05$  declarado como significativo. As análises para beta diversidade foram realizadas através de perMANOVA presente no pipeline do QIIME 2, utilizando um número de 10.000 permutações. As análises de alfa diversidade foram calculadas pelas bibliotecas phyloseq (MCMURDIE; HOLMES, 2013) e microbiome (LAHTI; SHETTY, 2018). As diferenças nas abundâncias relativas dos táxons entre todos os grupos experimentais foram analisadas com o teste de Wilcoxon. Essas análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R.

### 3.3 Resultados e discussão

#### 3.3.1 Potencial de oxirredução da água e pH da água de bebida, desempenho zootécnico e mortalidades

O pH<sub>3,40</sub> promoveu ( $p = 0,001$ ) maior ORP em comparação aos demais tratamentos, bem como o pH<sub>5,31</sub> gerou maior ORP do que o pH<sub>7,39</sub> (Tabela 3). Menor ( $p = 0,005$ ) consumo hídrico total foi obtido em leitões na fase inicial II do tratamento que ingeriram água em pH<sub>5,31</sub> comparados aos com pH<sub>7,39</sub> ou pH<sub>3,40</sub>. Entretanto, para a mesma fase, os animais do grupo controle tiveram ( $p = 0,001$ ) maior consumo hídrico por animal em comparação aos leitões com acidificação na água de bebida.

**Tabela 3.** Efeito de acidificantes na água de bebida sobre o potencial de oxidação/redução (ORP) da água e consumo hídrico diário de leitões em fase de creche ( $n = 8$  repetições de baias por tratamento)

Variáveis <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>			EPM <sup>3</sup>	<i>p-value</i>
	pH <sub>7,39</sub>	pH <sub>5,31</sub>	pH <sub>3,40</sub>		
ORP (mV)	438,53 <sup>c</sup>	608,81 <sup>b</sup>	781,06 <sup>a</sup>	29,408	<0,001
Fase pré-inicial (dia 1 a 9)					
CHT (L)	756,91	1.013,64	1.100,91	70,913	0,119
CHPA (L)	2,11	2,82	3,07	0,198	0,118
Fase inicial I (dia 10 a 15)					
CHT (L)	1.388,50	1.120,17	1.358,83	116,55	0,616
CHPA (L)	4,14	3,35	3,937	0,35	0,653
Fase inicial II (dia 16 a 30)					
CHT (L)	1.839,54 <sup>a</sup>	1.184,46 <sup>b</sup>	1.533,69 <sup>a</sup>	74,22	0,005
CHPA (L)	5,73 <sup>a</sup>	3,76 <sup>b</sup>	4,69 <sup>b</sup>	0,23	0,001
Período total (dia 1 a 30)					
CHT (L)	1.352,37	1.108,57	1.340,03	53,92	0,115
CHPA (L)	4,08	3,34	3,94	0,170	0,163

<sup>a-b-c</sup>Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste Student-Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>ORP: potencial de oxidação redução; CHT: consumo hídrico total; CHPA: consumo hídrico médio por animal.

<sup>2</sup>pH<sub>7,39</sub>: pH natural da água de bebida em 7,39; pH<sub>5,31</sub>: pH da água de bebida acidificada para 5,31; pH<sub>3,40</sub>: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

<sup>3</sup>EPM: erro padrão da média agrupado.

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

No presente estudo, a utilização de acidificantes de forma contínua via água de bebida objetivando a redução do pH para consumo dos leitões em fase de creche garantiu uma melhor qualidade microbiológica da água, porque o ORP indica o potencial de inativação de microrganismos e da oxidação de materiais orgânicos. Ainda, a maioria dos microrganismos são agentes redutores e, portanto, a maior leitura de ORP indica maior potência da água em oxidar e desinfetar (GONCHARUK et al., 2010). Os resultados de ORP superiores na água de bebida indicaram uma água de melhor qualidade para o consumo de leitões do tratamento pH<sub>3,40</sub>.

Maiores valores de CHT foram obtidos em leitões na fase inicial II que receberam acidificante na água com pH<sub>3,40</sub> e pH<sub>7,39</sub> comparados aos do tratamento pH<sub>5,31</sub>. Entretanto, quando avaliado o CHPA, o menor consumo hídrico foi para leitões que tiveram acidificantes comerciais via água. Embora foi relatado anteriormente que alguns acidificantes via água (por exemplo, ácido cítrico), melhoram o cheiro e realçam

a palatabilidade (NOWAK et al., 2021), há a hipótese de que as dosagens de acidificantes via água combinados com os acidificantes presentes na dieta causaram um efeito de sabor desagradável quando alguns ácidos são associados (por exemplo, ácido ascórbico e fosfórico) (PARTANEN; MROZ, 1999; LINGBEEK et al., 2021) diminuindo assim o consumo hídrico.

Não houve efeito de tratamento sobre o desempenho zootécnico dos animais (Tabela 4). Entretanto, a mortalidade foi menor ( $p < 0,001$ ) em leitões que ingeriram água com pH<sub>3,40</sub> comparados aos do controle (pH<sub>7,39</sub>) e pH<sub>5,31</sub> nas fases inicial I e II.

O aumento da ingestão de água é, frequentemente, associado ao maior consumo de ração (BUSSER et al., 2011); entretanto, isso não foi observado no presente estudo, corroborando com os resultados de Lingbeek et al. (2021). Alguns ácidos orgânicos e inorgânicos possuem sabores e odores (PARTANEN; MROZ, 1999) que podem reduzir o consumo de água e, conseqüentemente, de ração, impactando, assim, negativamente na taxa de crescimento. Esse achado confirma em partes a falta de resposta no desempenho zootécnico dos animais neste estudo. Ademais, levantou-se a hipótese de que para se alcançar o pH desejado (3,40 ou 5,31), uma grande quantidade de acidificantes foi adicionada na água de bebida, causando um sabor menos agradável e estimulativo ao consumo de água e dieta dos leitões.

**Tabela 4.** Efeito de acidificantes na água de bebida sobre o desempenho zootécnico e mortalidade de leitões em fase de creche ( $n = 8$  repetições de baias por tratamento)

Variáveis <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>			EPM <sup>3</sup>	<i>p-value</i>
	pH <sub>7,39</sub>	pH <sub>5,31</sub>	pH <sub>3,40</sub>		
Pré-inicial (dia 1 a 9)					
PCI (kg)	6,83	6,80	6,79	0,251	-
PCF (kg)	9,07	9,00	9,08	0,316	0,519
CRDM (kg)	0,26	0,25	0,25	0,007	0,197
GPD (kg)	0,23	0,22	0,23	0,009	0,569
EA (kg:kg)	0,89	0,88	0,92	0,020	0,416
NTA ( <i>n</i> )	358,54	358,72	358,36	0,246	0,843
Inicial I (dia 10 a 15)					
PCF (kg)	11,22	11,22	11,35	0,355	0,525
CRDM (kg)	0,41	0,43	0,43	0,009	0,099
GPD (kg)	0,34	0,34	0,37	0,009	0,106
EA (kg:kg)	0,82	0,78	0,85	0,015	0,143
NTA ( <i>n</i> )	335,33 <sup>b</sup>	334,67 <sup>b</sup>	345,00 <sup>a</sup>	0,12	<0,001
Inicial II (dia 16 a 30)					
PCF (kg)	18,31	18,01	17,63	0,504	0,449
CRDM (kg)	0,77	0,77	0,70	0,021	0,106
GPD (kg)	0,49	0,47	0,43	0,017	0,292
EA (kg:kg)	0,63	0,61	0,60	0,014	0,636
NTA ( <i>n</i> )	321,53 <sup>b</sup>	315,00 <sup>c</sup>	327,85 <sup>a</sup>	1,10	<0,001
Período total (dia 1 a 30)					
GPD (kg)	0,35	0,33	0,34	0,011	0,636
CRDM (kg)	0,56	0,56	0,52	0,012	0,086
EA (kg:kg)	0,63	0,60	0,65	0,014	0,332

<sup>a-b-c</sup>Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste Student-Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>PCI: peso corporal inicial; PCF: peso corporal final; GPD: ganho de peso diário; CRDM: consumo de ração diário médio; EA: eficiência alimentar para ganho; NTA: número de animais vivos na fase.

<sup>2</sup>pH<sub>7,39</sub>: pH natural da água de bebida em 7,39; pH<sub>5,31</sub>: pH da água de bebida acidificada para 5,31; pH<sub>3,40</sub>: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

<sup>3</sup>EPM: erro padrão da média agrupado.

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Quando a acidificação da dieta e da água na fase de creche são combinadas, esse manejo pode causar uma menor ingestão de dieta devido aos altos níveis de ácido que reduzem a palatabilidade (WALSH et al., 2007). Ainda, as razões para a variação dos resultados de desempenho em leitões recebendo acidificantes via água e/ou dieta são atribuídas às dosagens e misturas de ácidos testados, composição da dieta controle e idade dos leitões (RAVINDRAN; KORNEGAY, 1993).

A adição de antibióticos e de agentes antimicrobianos (por exemplo, cobre e zinco), também influenciam na ausência de respostas dos acidificantes porque atuam de maneira análoga. Outro ponto a ser considerado é a pressão sanitária da granja e o nível de desempenho dos leitões alojados. Quando os animais são mantidos em condições de baixo desafio pós-desmame, a falta de resposta pode ser explicada por uma menor exposição contra patógenos ou desafios de ambiência, bem como pelo fornecimento de uma dieta balanceada com teores adequados de nutrientes e a eficácia dos aditivos, e ao estágio de desenvolvimento dos animais (ZHENG et al., 2021), independente dos grupos avaliados.

Em um estudo anterior, Partanen e Mroz (1999) verificaram que os ácidos fórmicos e formiatos tiveram um efeito positivo no consumo de dieta, enquanto o fumárico não, e o ácido cítrico mostrou efeito negativo; porém, esses efeitos também podem estar relacionados à idade dos leitões, porque os animais mais jovens são mais sensíveis às mudanças na palatabilidade da dieta. Também, Busser et al. (2011) evidenciaram que com uma mistura de ácido láctico, fórmico, propiônico e acético em diferentes doses adicionada à água de bebida de leitões desmamados, não houve diferenças no CRDM, GPD, PCF ou EA, embora, numericamente, a EA foi melhorada com a maior dose de acidificante de água.

### 3.3.2 Perfis bioquímico, de gasometria e antioxidante sanguíneos

Os animais que receberam água de bebida com pH<sub>3,40</sub> tiveram ( $p < 0,001$ ) menores concentrações de ALT e AST no sangue em comparação àqueles do grupo controle e do grupo pH<sub>5,31</sub>, diferindo ( $p < 0,001$ ) do resultado obtido nas concentrações de colesterol total (Tabela 5).

No presente estudo, a adição de acidificantes na água de bebida com pH<sub>3,40</sub> não provocou danos hepáticos aos animais devido aos resultados de valores enzimáticos encontrados na atividade de ALT e AST. Quando as células hepáticas são lesionadas ou danificadas por fatores como inflamação, as concentrações das enzimas intracelulares ALT e AST são aumentadas no sangue, causando alterações funcionais e/ou estruturais nos hepatócitos (THRALL et al., 2012). Ainda, a concentração média de AST obtida em leitões do tratamento pH<sub>3,40</sub> está de acordo com os valores de referência (32 a 84

U/L) para animais em fase de creche (MEYER; HARVEY, 2004), sendo superior nos demais tratamentos. Entretanto, nenhum dos tratamentos apresentou valores de atividade de ALT de acordo com os intervalos de referência (31 a 58 U/L) para suínos de creche (MEYER; HARVEY, 2004), mas os menores valores foram observados em animais do tratamento pH<sub>3,40</sub>, indicando menor dano hepático (THRALL et al., 2012).

**Tabela 5.** Efeito de acidificantes na água de bebida sobre o perfil bioquímico sanguíneo de leitões em fase de creche no dia 29 ( $n = 24$  leitões por tratamento)

Variáveis <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>			EPM <sup>3</sup>	<i>p-value</i>
	pH <sub>7,39</sub>	pH <sub>5,31</sub>	pH <sub>3,40</sub>		
Albumina (mg/dL)	2,75	2,22	2,39	0,15	0,346
ALT (U/L)	88,05 <sup>a</sup>	84,17 <sup>a</sup>	24,72 <sup>b</sup>	4,86	<0,001
AST (U/L)	89,07 <sup>a</sup>	87,24 <sup>a</sup>	32,75 <sup>b</sup>	5,86	<0,001
Colesterol total (mg/dL)	114,25 <sup>b</sup>	116,21 <sup>b</sup>	167,38 <sup>a</sup>	4,67	<0,001
Glicose (mg/dL)	89,74	93,35	89,06	2,48	0,758
Ureia (mg/dL)	14,13	12,83	16,46	0,86	0,225

<sup>a-b</sup>Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste Student-Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase.

<sup>2</sup>pH<sub>7,39</sub>: pH natural da água de bebida em 7,39; pH<sub>5,31</sub>: pH da água de bebida acidificada para 5,31; pH<sub>3,40</sub>: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

<sup>3</sup>EPM: erro padrão da média agrupado.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

A atividade sérica das enzimas ALT e AST é considerada um bom marcador de danos nos tecidos moles, incluindo alterações de permeabilidade da membrana celular do tecido hepático e intestino (NYBLOM et al., 2004; OBALEYE et al., 2007). Os resultados sugerem que a adição de acidificantes na água de bebida com pH<sub>3,40</sub> promoveu o desenvolvimento e maturação das células hepáticas e intestinais.

O fígado e o tecido adiposo são os principais órgãos para a síntese e armazenamento de triglicerídeos séricos. O colesterol total, incluindo colesterol livre e éster de colesterol, é sintetizado e armazenado no fígado. O aumento da concentração de colesterol total observado em leitões que tiveram o tratamento pH<sub>3,40</sub> pode ser suportado pela melhora na digestão e absorção da dieta (embora a digestibilidade dos nutrientes não foi avaliada). Acredita-se, assim, que os acidificantes adicionados de forma contínua na água de bebida podem alterar a absorção do colesterol da dieta ou a síntese e o metabolismo do colesterol no fígado, como reportado por Thacker et al. (1981).

Entretanto, a adição de acidificantes na água de bebida dos animais não alterou



as concentrações de glicose, ureia e albumina e, portanto, não influenciou a oxidação de carboidratos e proteínas, a glicose sistêmica e o fornecimento de energia (UYEDA; REPA, 2006).

Os constituintes de gasometria sanguínea em leitões de creche não foram afetados pela acidificação da água de bebida (Tabela 6).

**Tabela 6.** Efeito de acidificantes na água de bebida sobre a gasometria sanguínea de leitões em fase de creche no dia 29 ( $n = 8$  leitões por tratamento)

Variáveis <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>			EPM <sup>3</sup>	<i>p-value</i>
	pH <sub>7,39</sub>	pH <sub>5,31</sub>	pH <sub>3,40</sub>		
PO <sub>2</sub> mmHg	48,64	67,62	69,72	4,102	0,072
PCO <sub>2</sub> mmHg	54,62	47,45	47,68	2,217	0,360
pH	7,34	7,41	7,40	0,015	0,194
SO <sub>2</sub> %	61,64	76,90	83,55	4,700	0,162
SO <sub>2</sub> (c) %	78,83	86,43	91,66	2,590	0,134
BE mmol/L	2,26	3,29	3,15	0,371	0,511
BE <sub>ecf</sub> mmol/L	3,09	3,74	3,66	0,390	0,786
CHCO <sub>3</sub> mmol/L	29,34	28,41	28,47	0,410	0,620
ctO <sub>2</sub> % vol.	11,52	10,74	11,44	0,895	0,933
AG mmol/L	10,02	8,74	8,44	0,449	0,346
Lac mmol/L	4,34	3,28	3,05	0,303	0,199
K <sup>+</sup> mmol/L	5,74	5,69	5,84	0,119	0,878
Na <sup>+</sup> mmol/L	139,56	136,91	137,77	0,554	0,151
Hct %	29,40	27,18	27,70	1,178	0,753
Hb g/dL	10,42	9,48	9,78	0,318	0,513
Cl mmol/L	106,14	105,41	106,68	0,303	0,221
Ca <sup>2+</sup> mmol/L	1,30	1,26	1,31	0,010	0,081

<sup>1</sup>PO<sub>2</sub>: pressão parcial de oxigênio; PCO<sub>2</sub>: pressão parcial do gás carbônico; pH: potencial hidrogeniônico; SO<sub>2</sub> (c): saturação de hemoglobina; BE: balanço eletrolítico; excesso de base no sangue e no fluido extracelular (BE<sub>ecf</sub>); CHCO<sub>3</sub>: bicarbonato de sódio; ctO<sub>2</sub>: conteúdo total de oxigênio; AG: ânion gap; Lac: lactato; K<sup>+</sup>: potássio; Na<sup>+</sup>: sódio; Hct: hematócrito; Hb: hemoglobina; Cl: cloro; Ca<sup>2+</sup>: cálcio.

<sup>2</sup>pH<sub>7,39</sub>: pH natural da água de bebida em 7,39; pH<sub>5,31</sub>: pH da água de bebida acidificada para 5,31; pH<sub>3,40</sub>: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

<sup>3</sup>EPM: erro padrão da média agrupado.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

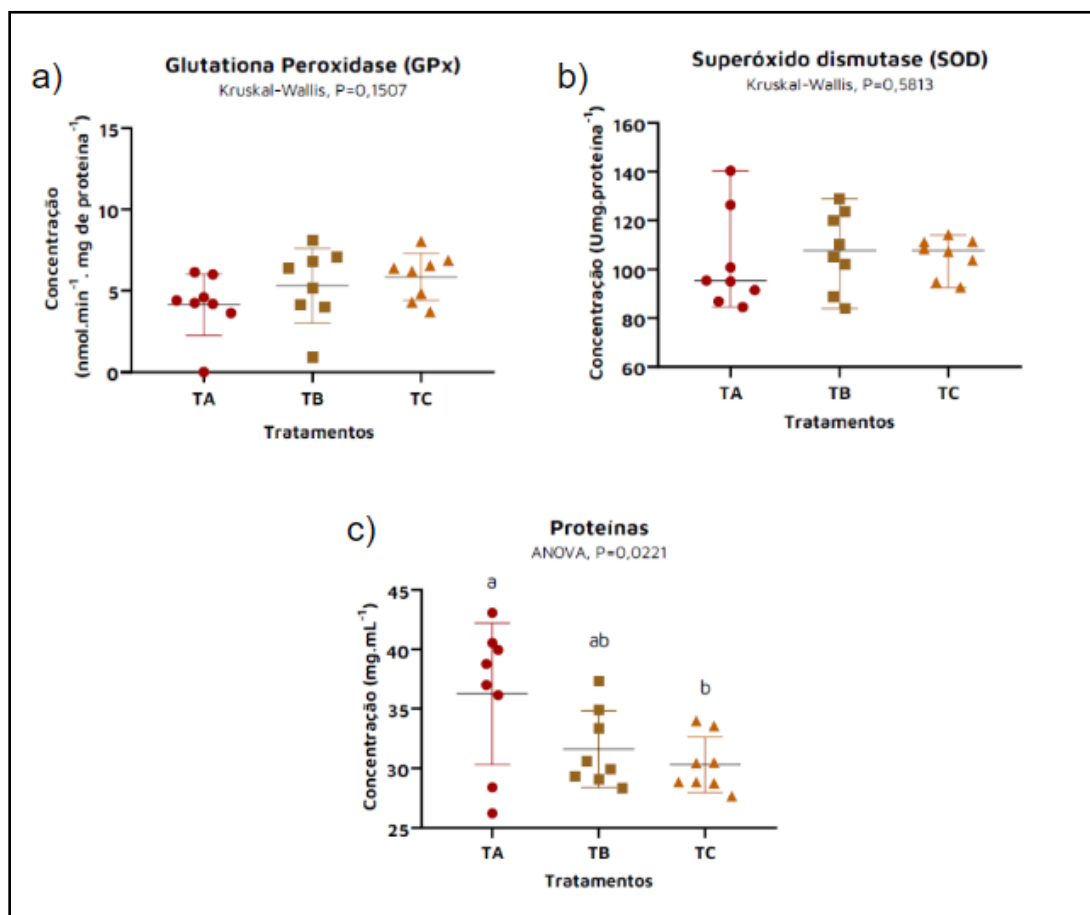
Tais resultados sugerem que a acidificação da água de bebida não causa distúrbios respiratórios, renais ou metabólicos em leitões (GONZÁLEZ; SILVA, 2022), nem compromete o processo de acidez estomacal porque as concentrações de lactato não foram alteradas (um alto nível de lactato no estômago tende a inibir a secreção de ácido clorídrico e, portanto, gera secreção enzimática insuficiente), concordando com os resultados reportados por Oliveira Júnior et al. (2022). Além disso, o estado de

equilíbrio ácido-base não foi afetado negativamente, embora os leitões que receberam pH<sub>5,31</sub> tiveram concentrações marginalmente inferiores de cálcio no sangue. Por outro lado, é possível um aumento da absorção de cálcio ao nível intestinal, como observado por Deng et al. (2021).

Os animais que receberam acidificantes via água de bebida mostraram uma tendência de maiores alterações na PO<sub>2</sub>; no entanto, isso não foi suficiente para influenciar a concentração de gases no sangue de leitões. A PO<sub>2</sub> dentro do seu valor normal (80 a 100 mmHg) determina uma boa eficácia das trocas de oxigênio entre alvéolos e capilares pulmonares, porque valores abaixo de 80 mmHg representam um quadro de hipoxemia, e valores acima de 100 mmHg indicam quadro de hiperoxemia (GIANOTTI et al., 2010; GOMES; PEREIRA, 2021).

### 3.3.3 Perfil antioxidante sanguíneo

Não houve efeito de tratamento sobre o perfil antioxidante sanguíneo (Figura 1). Entretanto, os animais com o tratamento pH<sub>3,40</sub> da água de bebida apresentaram menor concentração de proteínas totais quando comparados aos leitões que ingeriram água com pH<sub>7,39</sub> (P=0,0221).



**Figura 1.** Efeito de acidificantes na água de bebida de leitões em fase de creche sobre o perfil enzimático sanguíneo: a) Glutathione peroxidase; b) Superóxido dismutase; c) Proteína total ( $n = 16$  leitões por tratamento)

TA: pH natural da água de bebida em 7,39 (controle); TB: pH da água de bebida acidificada para 5,31; TC: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

O sistema antioxidante inclui enzimas como SOD, GPx e catalase, que protegem o metabolismo contra o estresse oxidativo (ZHAN et al., 2006). A redução da atividade dessas enzimas promove aumento nas concentrações de radicais de oxigênio no corpo do animal (WANG et al., 2012). Dessa forma, os animais não mostraram danos do sistema de defesa ou oxidativo em nível celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015), visto que a acidificação da água de bebida não influenciou o perfil antioxidante.

Concentrações plasmáticas de proteínas totais compreendem, principalmente, albumina e globulinas, relacionadas ao sistema imunológico e à resposta aos processos inflamatórios (HERSEY-BENNER, 2013). Proteínas de fase aguda alteram suas concentrações séricas em mais de 25% em resposta às citocinas pró-inflamatórias (ECKERSALL; BELL, 2010), e são utilizadas para avaliar a resposta sistêmica do sistema imune inato (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005), porque

são indicadores de infecção e inflamação (ECKERSALL; BELL, 2010).

Neste estudo, menores concentrações de proteínas totais encontradas em leitões os quais receberam o tratamento pH<sub>3,40</sub> indicaram que o uso de acidificantes de maneira contínua pode atenuar processos inflamatórios via mudanças na metabolização de proteínas hepáticas, porque a estimulação da produção hepática de proteínas de fase aguda é feita por citocinas pró-inflamatórias (JAIN; GAUTAM; NASEEM, 2011). Ao reduzir a colonização e a proliferação de bactérias patogênicas, os acidificantes via água podem, potencialmente, reduzir o risco de inflamação intestinal e as respostas imunológicas associadas em leitões (PEARLIN et al., 2020). Além disso, os acidificantes podem influenciar a liberação e a atividade de determinadas moléculas pró-inflamatórias (XU et al., 2022). Assim, levantou-se a hipótese de que a redução do pH no meio pode afetar a expressão e a secreção de citocinas, quimiocinas e outros mediadores inflamatórios, modulando, potencialmente, a resposta inflamatória.

#### 3.3.4 Morfometria intestinal

Não houve diferença entre os tratamentos sobre a morfometria intestinal (Tabela 7). No presente estudo, a adição de acidificantes via água de bebida não alterou significativamente a morfometria intestinal. A digestibilidade dos nutrientes e energia não foi avaliada para entender como a tendência de superioridade da relação AV:PC em leitões com pH<sub>7,39</sub> poderia afetar a capacidade de digestão e absorção. Portanto, são necessárias mais pesquisas para fornecer evidências desse modo de ação dos acidificantes estudados, compostos por um *blend* de ácido cítrico, ascórbico e fosfórico via água de bebida.

A redução da presença de toxinas que estão relacionadas com alterações na morfometria intestinal impacta diretamente na relação AV:PC. Os animais do tratamento pH<sub>7,39</sub> não receberam acidificantes via água de bebida, mas as dietas comerciais usadas eram compostas de misturas de acidificantes e, portanto, isso não implicaria na tendência de maior relação AV:PC jejunal em leitões que receberam água de bebida com pH<sub>7,39</sub>. Além disso, os animais consumiram dietas pré-inicial e iniciais com alto conteúdo de lactose, o que reduz o estresse ao desmame e contribui para pequenas alterações da morfometria intestinal, como relatado por Grecco et al. (2018).

**Tabela 7.** Efeito de acidificantes na água de bebida sobre a morfometria intestinal de leitões em fase de creche no dia 30 ( $n = 7$  leitões por tratamento)

Variáveis	Tratamentos <sup>2</sup>			EPM <sup>3</sup>	<i>p-value</i>
	pH <sub>7,39</sub>	pH <sub>5,31</sub>	pH <sub>3,40</sub>		
<b>Morfometria jejunal</b>					
Altura de vilosidades ( $\mu\text{m}$ )	390	336	374	16,69	0,424
Profundidade de cripta ( $\mu\text{m}$ )	205	238	276	13,76	0,103
Relação AV:PC	2,02	1,47	1,42	0,120	0,069
<b>Morfometria ileal</b>					
Altura de vilosidades ( $\mu\text{m}$ )	351	357	334	21,04	0,908
Profundidade de cripta ( $\mu\text{m}$ )	240	277	229	13,60	0,350
Relação AV:PC	1,48	1,34	1,51	0,090	0,729

<sup>1</sup>AV: altura de vilosidades; PC: profundidade de cripta.

<sup>2</sup>pH<sub>7,39</sub>: pH natural da água de bebida em 7,39; pH<sub>5,31</sub>: pH da água de bebida acidificada para 5,31; pH<sub>3,40</sub>: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

<sup>3</sup>EPM: erro padrão da média agrupado.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

A melhora na morfometria intestinal é benéfica para uma maior digestão e absorção eficaz de nutrientes. Além disso, a barreira intestinal pode ser melhorada pelo equilíbrio da microbiota intestinal (SEKIROV et al., 2010). Embora a acidificação da água de bebida para leitões favoreceu a modulação benéfica da microbiota intestinal no estudo atual, isso não promoveu alterações na morfometria intestinal de leitões, o que pode ser atribuído também a quantidade de acidificante na composição das dietas testadas (DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017), e aos aspectos sanitários da granja do estudo, bem como diferentes acidificantes têm composições e modos de ação variados (PEARLIN et al., 2020), e nem todos podem ser igualmente eficazes para o efeito desejado na morfometria intestinal.

### 3.3.5 Biometria de órgãos digestórios e não digestórios

Não houve diferença de tratamento sobre o comprimento do intestino delgado (Tabela 8). Entretanto, os leitões que receberam o tratamento pH<sub>3,40</sub> tiveram maior peso de estômago vazio, baço, e fígado com vesícula biliar comparando-se àqueles com o tratamento controle.

**Tabela 8.** Efeito de acidificantes na água de bebida sobre o comprimento do intestino delgado e peso de órgãos digestórios e não digestórios de leitões em fase de creche no dia 30 ( $n = 15$  leitões por tratamento)

Variáveis	Tratamentos			EPM	<i>p-value</i>
	pH <sub>7,39</sub>	pH <sub>5,31</sub>	pH <sub>3,40</sub>		
Peso de órgãos (kg)					
Estômago vazio	0,14 <sup>b</sup>	0,15 <sup>ab</sup>	0,16 <sup>a</sup>	0,003	0,023
Intestino delgado vazio	0,94	1,06	1,04	0,027	0,145
Fígado com vesícula biliar	0,62 <sup>b</sup>	0,71 <sup>a</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,013	0,006
Baço	0,04 <sup>b</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,001	0,015
Coração	0,10	0,11	0,11	0,002	0,192
Rins	0,12	0,12	0,13	0,003	0,436
Comprimento do ID (m)	12,92	13,71	12,69	0,251	0,221

<sup>a-b</sup>Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste Student-Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>ID: intestino delgado.

<sup>2</sup>pH<sub>7,39</sub>: pH natural da água de bebida em 7,39; pH<sub>5,31</sub>: pH da água de bebida acidificada para 5,31; pH<sub>3,40</sub>: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

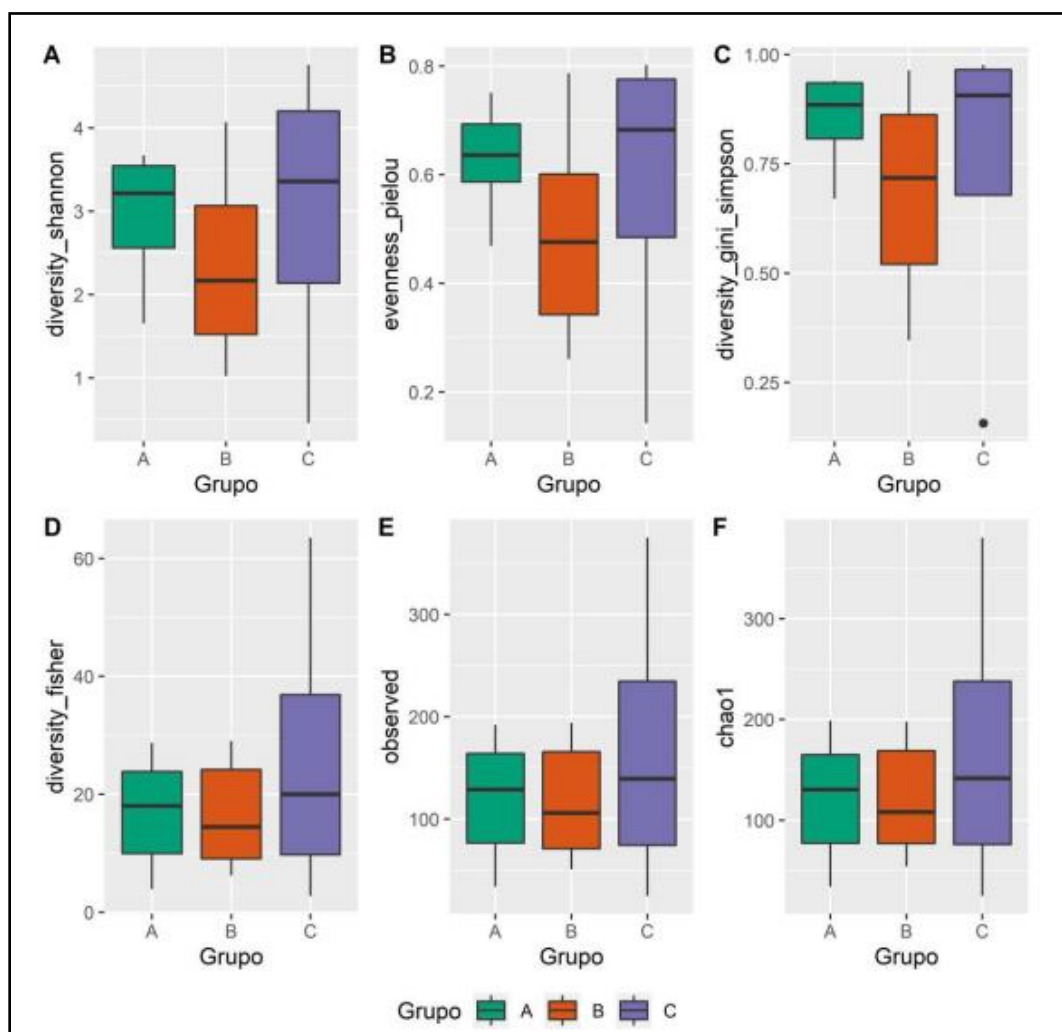
<sup>3</sup>EPM: erro padrão da média agrupado.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

O peso dos órgãos pode variar em função do consumo de energia e/ou proteína (RAO; MCCRACKEN, 1992), mas as dietas fornecidas aos leitões neste experimento eram isonutritivas. Tais resultados sugeriram que os acidificantes via água promovem melhoria da resposta imunológica e resistência às doenças, bem como um suporte nas funções digestivas. O maior peso do baço em leitões que receberam pH<sub>3,4</sub> pode estar envolvido com a capacidade de reduzir a mortalidade em animais porque estimula o sistema imunológico (LUO et al., 2021). Embora neste estudo não se avaliou a atividade de enzimas relacionadas ao processo de digestão, um maior peso do estômago e fígado sugeriu uma importância na digestão (ELEFSON et al., 2021), confirmado pela maior concentração de colesterol total e menor atividade de AST e ALT.

### 3.3.6 Microbioma intestinal

Os testes de alfa diversidade (Shannon, Evenness Pielou, Índice de Simpson, Fisher, número total de OTUs observado e Chao 1) não evidenciaram diferenças na abundância bacteriana entre os tratamentos (Figura 2).

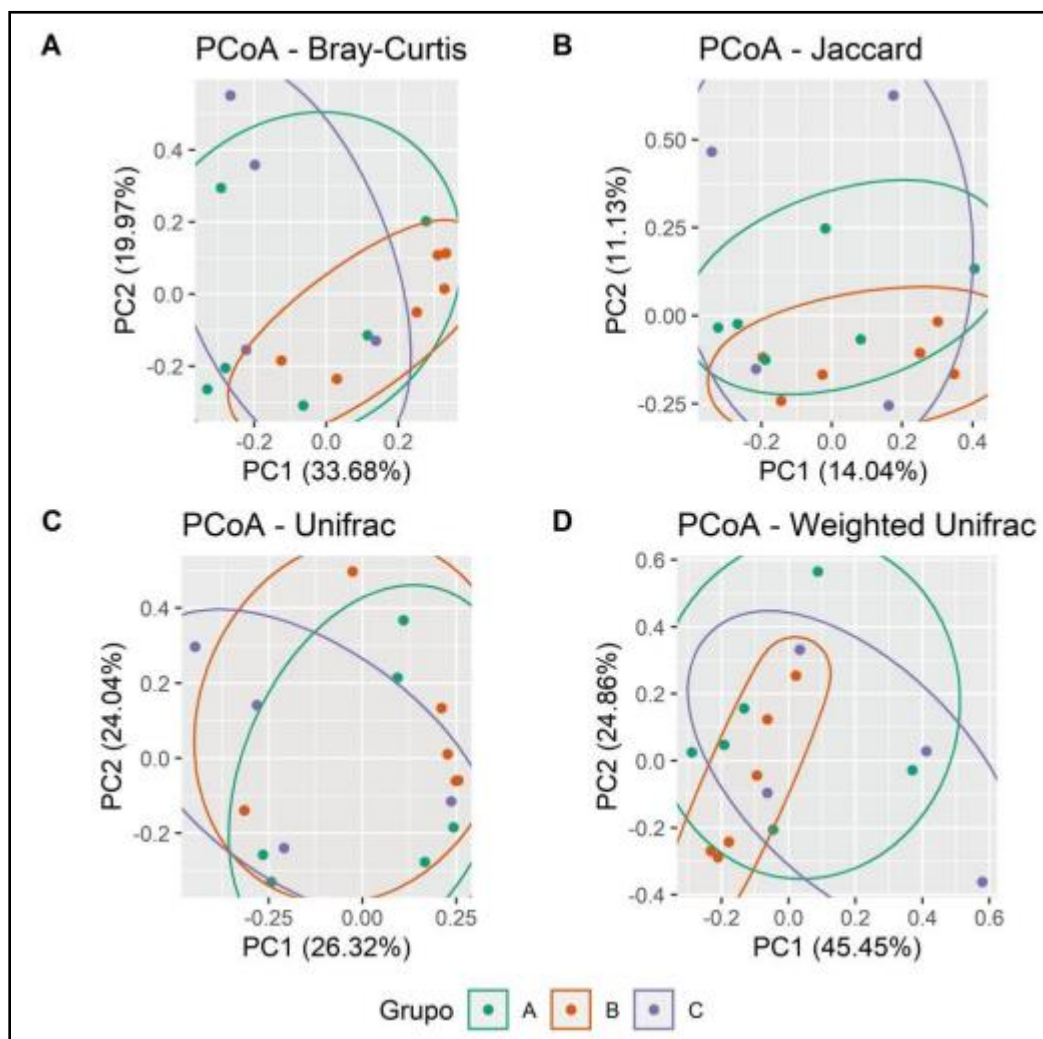


**Figura 2.** Diversidade alfa, estimada pelos parâmetros Entropia de Shannon (A), Evenness Pielou (B), Índice de Simpson (C), Fisher (D), número total de OTUs observado (E) e Chao1 (F) ( $n = 15$  leitões por tratamento)

Grupo A: pH natural da água de bebida em 7,39 (controle); Grupo B: pH da água de bebida acidificada para 5,31; Grupo C: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

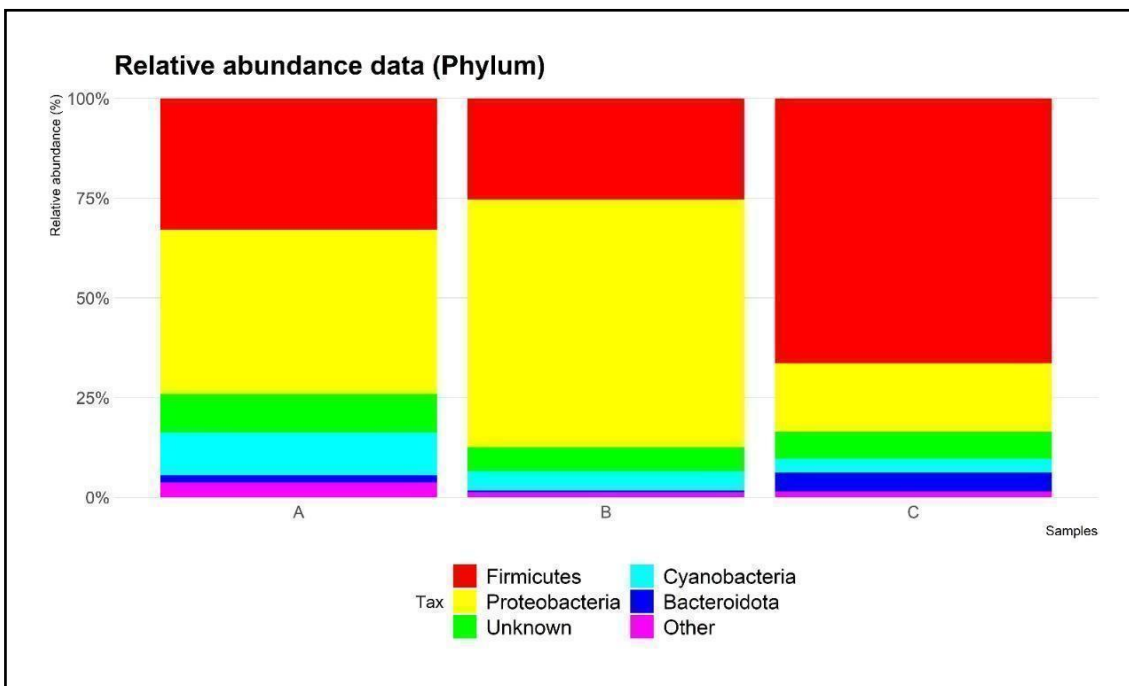
A diversidade beta (Figura 3) foi estimada pelos parâmetros Bray-Curtis ( $p = 0,089$ ), Jaccard ( $p = 0,513$ ), UniFrac ( $p = 0,212$ ) e Weighted UniFrac ( $p = 0,103$ ). Entretanto, os tratamentos não apresentaram diferenças quanto à dissimilaridade de táxons presentes nas amostras, considerando tanto a presença ou ausência dos táxons quanto a relação filogenética entre os táxons.



**Figura 3.** Diversidade beta, estimada pelos parâmetros Bray-Curtis (A), Jaccard (B), Unifrac (C) e Weighted Unifrac (D) ( $n = 15$  leitões por tratamento)  
 Grupo A: pH natural da água de bebida em 7,39 (controle); Grupo B: pH da água de bebida acidificada para 5,31; Grupo C: pH da água de bebida acidificada para 3,40.  
 Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

Quanto à composição da comunidade bacteriana, foram apresentadas as abundâncias de acordo com os filos, classes, ordens, famílias e gêneros com abundâncias relativas médias superiores a 1% em ao menos um dos tratamentos testados. Os filos mais abundantes nas amostras analisadas foram Firmicutes, Proteobacteria, Cyanobacteria e Bacteroidota (Figura 4).





**Figura 4.** Abundância relativa dos filios de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida

A: pH natural da água de bebida em 7,39 (controle); B: pH da água de bebida acidificada para 5,31; C: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

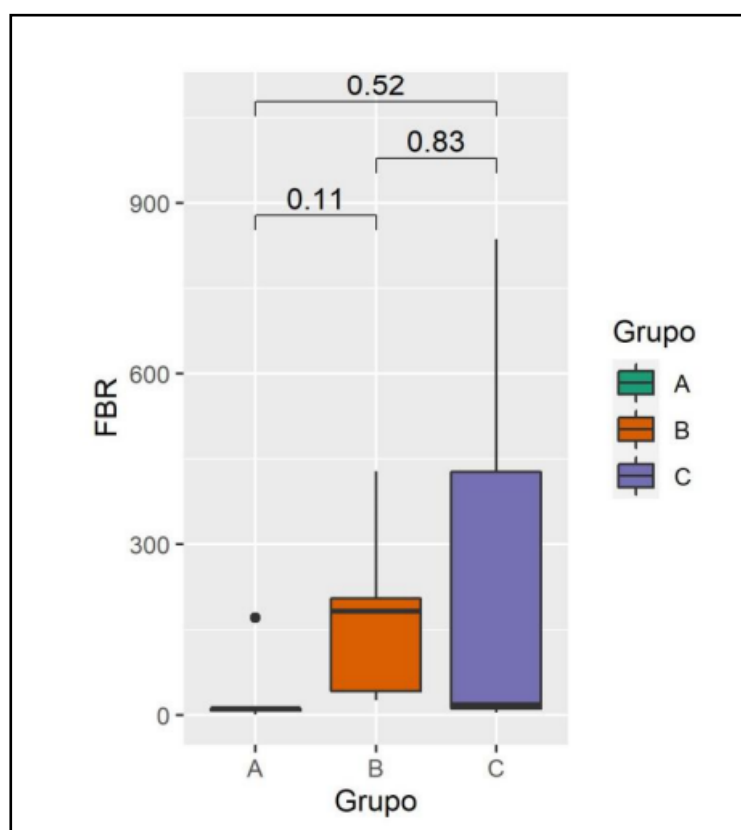
Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

Em suínos, os filios bacterianos de maior predominância no microbioma são os Firmicutes, Bacteroidota e Proteobacteria (ISAACSON; KIM, 2012; GRESSE et al., 2019; LE SCIELLOUR; RENAUDEAU; ZEMB, 2019), como observado neste estudo (Figura 4). Porém, há variações nas comunidades microbianas porque são dinâmicas e apresentam perfil distinto nas diferentes porções do trato gastrointestinal e nas fezes (ISAACSON; KIM, 2012; GRESSE et al., 2019; LE SCIELLOUR; RENAUDEAU; ZEMB, 2019).

O filo Firmicutes foi encontrado em maior proporção (70%) em leitões no tratamento com pH<sub>3,40</sub> e é de extrema importância para a manutenção da homeostase gastrointestinal (RYCHLIK, 2020). Um aumento da proporção de Firmicutes apresenta correlação negativa com a incidência de bactérias patogênicas no intestino dos animais, porque promove um ambiente intestinal hostil para a colonização destas (MOLIST et al., 2012), melhorando a comunidade microbiana intestinal benéfica em suínos (XU et al., 2022). Já o filo Bacteroidota, mais abundante (5%) em leitões que receberam o tratamento pH<sub>3,40</sub>, atua na modulação do sistema imune, atenua síndromes metabólicas e regula o eixo cérebro-intestino (GIBIINO et al., 2018), apresentando efeitos benéficos

para sua abundância no intestino.

Não foram obtidas diferenças entre os tratamentos na razão Firmicutes/Bacteroidota (F/B) (Figura 5). A razão F/B é amplamente aceita como parâmetro avaliativo da saúde intestinal e mudanças nessa proporção podem desencadear diversas patologias (TURNBAUGH et al., 2006; MAGNE et al., 2020; STOJANOV; BERLEC; ŠTRUKELJ, 2020). Dessa forma, a razão F/B apresentada indicou manutenção da saúde intestinal em animais que foram tratados com acidificação via água de bebida.

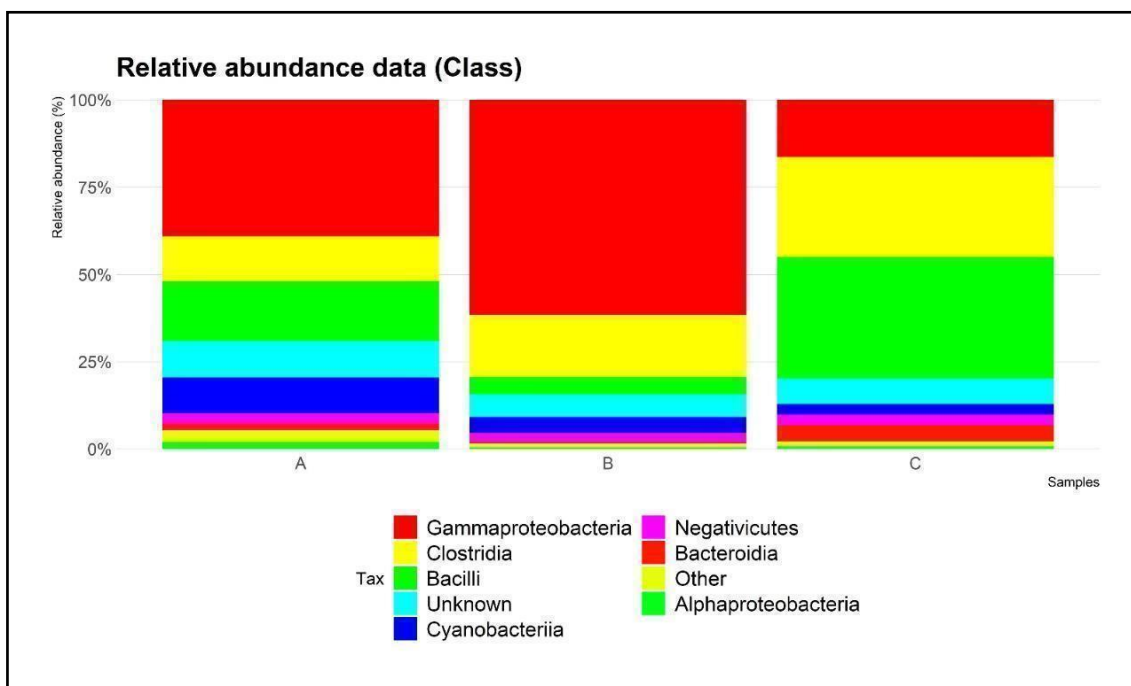


**Figura 5.** Razões Firmicutes/Bacteroidota (F/B) de acordo com os tratamentos (grupos) testados ( $n = 15$  leitões por tratamento)

A: pH natural da água de bebida em 7,39 (controle); B: pH da água de bebida acidificada para 5,31; C: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

Quanto às classes bacterianas encontradas, as classes Gammaproteobacteria, Clostridia, Bacilli, Cyanobacteria, Negativicutes, Bacteroidia e Alphaproteobacteria apresentaram as maiores abundâncias (Figura 6).

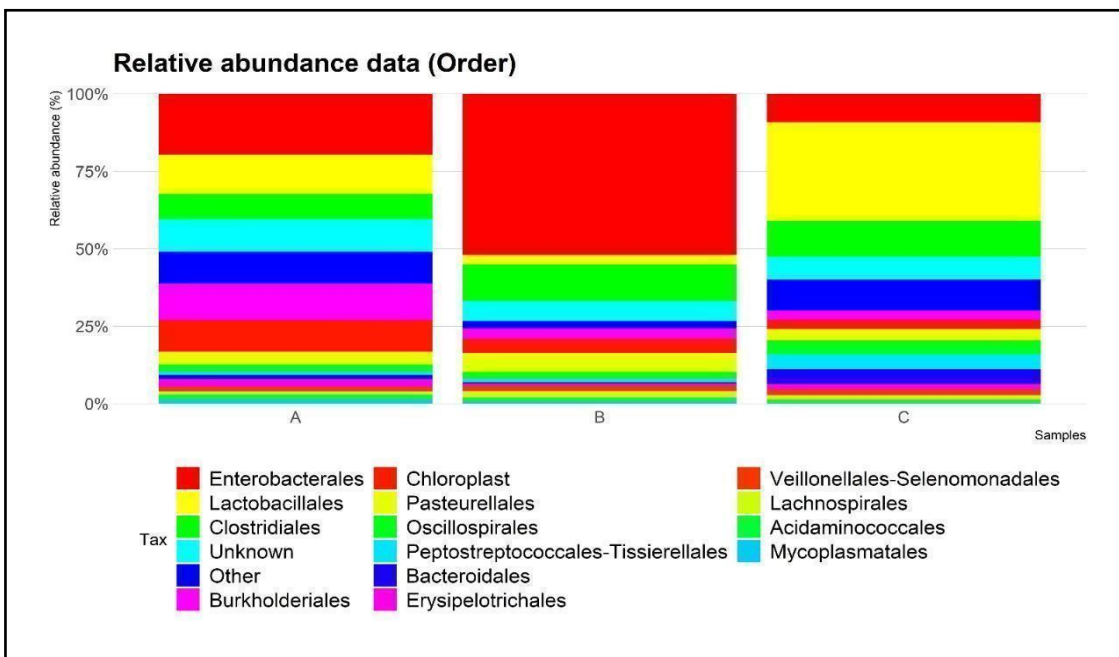


**Figura 6.** Abundância relativa das classes de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida

A: pH natural da água de bebida em 7,39 (controle); B: pH da água de bebida acidificada para 5,31; C: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

As ordens mais abundantes nos tratamentos foram Enterobacterales, Lactobacillales, Clostridiales, Burkholderiales, Chloroplast, Pasteurellales, Oscillospirales, Peptostreptococcales-Tissierellales, Bacteroidales, Erysipelotrichales, Veillonellales-Selenomonadales, Lachnospirales, Acidaminococcales e Mycoplasmatales (Figura 7).



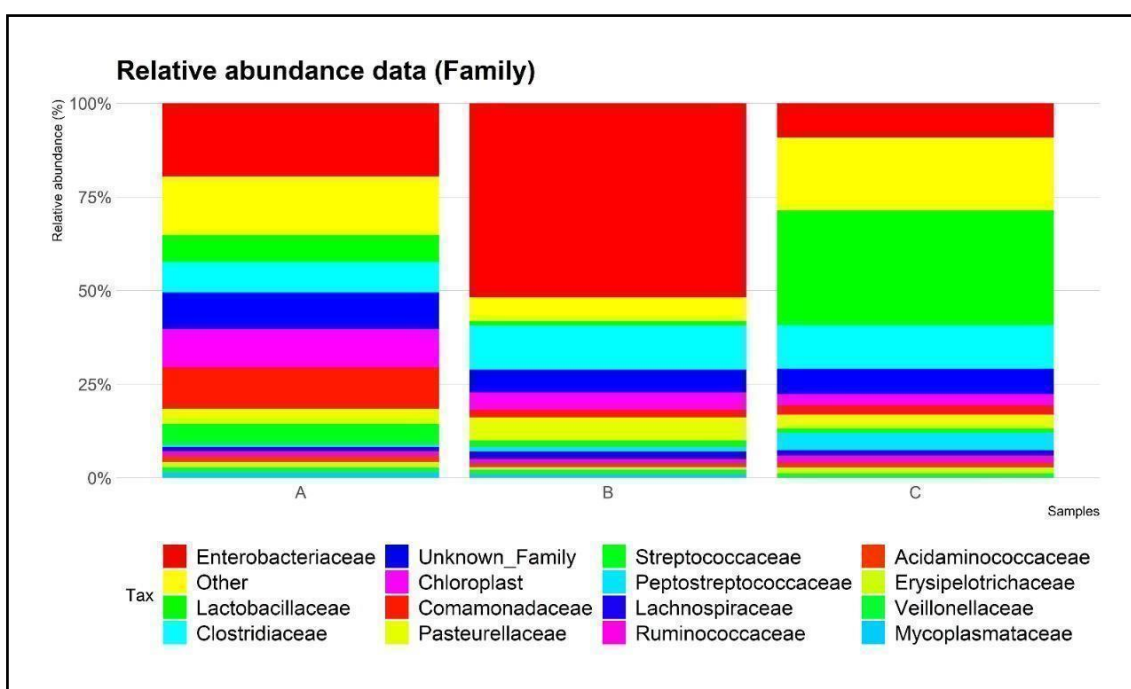
**Figura 7.** Abundância relativa das ordens de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida A: pH natural da água de bebida em 7,39 (controle); B: pH da água de bebida acidificada para 5,31; C: pH da água de bebida acidificada para 3,40. Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

As famílias mais abundantes nas amostras analisadas foram Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae, Clostridiaceae, Chloroplast, Comamonadaceae, Pasteurellaceae, Streptococcaceae, Peptostreptococcaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Acidaminococcaceae, Erysipelotrichaceae, Veillonellaceae e Mycoplasmataceae (Figura 8).

O perfil de colonização bacteriana obtido em animais tratados com água acidificada (pH<sub>3,40</sub>) foi favorecido devido às condições acidificantes no trato gastrointestinal, permitindo maior proporção (70%) de bactérias benéficas, como *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Bifidobacterium* que são do filo Firmicutes. Por outro lado, observou-se abundância relativa mínima (8%) da família Enterobacteriaceae, que tem crescimento ótimo em pH na faixa de 6,0 a 8,0.

O ambiente em que o animal permanece no início da sua vida afeta diretamente a composição microbiana do intestino e a função imune inata da mucosa intestinal (MULDER et al., 2009). Uma microbiota dominada por *Lactobacillus* nas fases iniciais de vida, como observada em animais do tratamento pH<sub>3,40</sub>, auxilia na manutenção da homeostase imunológica da mucosa e limita a colonização de patógenos durante o crescimento dos animais (NAKANDALAGE; GUAN; MALMUTHUGE, 2023).

As bactérias da família Enterobacteriaceae, mais abundantes em leitões que tiveram o tratamento pH<sub>7,39</sub> (20%) e pH<sub>5,31</sub> (50%), sugeriram um estado de contaminação e maiores prevalências de problemas sanitários, porque essa família é relacionada a potenciais patógenos que acometem os suínos, como *E. coli*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia pestis* (BUBLITZ et al., 2014; COHEN; POWDERLY; OPAL, 2016). A proporção reduzida (8%) na família Enterobacteriaceae observada em leitões com o tratamento pH<sub>3,40</sub> concorda com a proporção aumentada (30%) da família *Lactobacillaceae*. Estas famílias bacterianas têm funções metabólicas opostas em suínos (ZHANG et al., 2018), sugerindo que houve menor abundância relativa de famílias com bactérias patogênicas em leitões que receberam o tratamento pH<sub>3,40</sub>.



**Figura 8.** Abundância relativa das famílias de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida

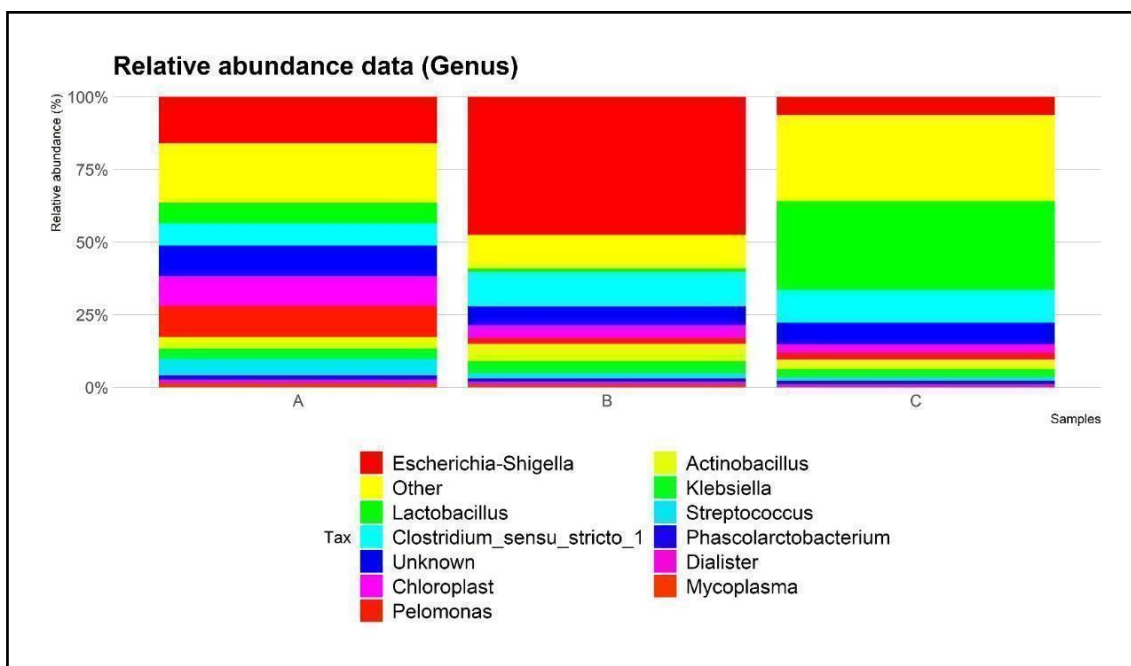
A: pH natural da água de bebida em 7,39 (controle); B: pH da água de bebida acidificada para 5,31; C: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

Enterobacteriaceae está entre as famílias bacterianas que mais aumenta em abundância relativa em situações de inflamação intestinal (PICKARD et al., 2017). Em um estudo anterior (SUN et al., 2019) que comparou a microbiota de leitões com e sem diarreia, foi demonstrado que o gênero *Escherichia-Shigella* (pertencente à família Enterobacteriaceae) teve maior abundância da microbiota intestinal diarreica, enquanto que o gênero *Prevotellaceae UCG-003* foi predominante na microbiota de leitões sem

diarreia.

Os gêneros mais abundantes foram *Escherichia-Shigella*, *Lactobacillus*, *Clostridium\_sensu\_stricto\_1*, *Chloroplast*, *Pelomonas*, *Actinobacillus*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Phascolarctobacterium*, *Dialister* e *Mycoplasma* (Figura 9).



**Figura 9.** Abundância relativa dos gêneros de comunidade bacteriana nas fezes dos leitões em fase de creche após consumo dos acidificantes na água de bebida

A: pH natural da água de bebida em 7,39 (controle); B: pH da água de bebida acidificada para 5,31; C: pH da água de bebida acidificada para 3,40.

Fonte: Dados da Pesquisa (2023).

Neste estudo, os leitões do tratamento pH<sub>3,40</sub> apresentaram menor abundância relativa na microbiota de *Escherichia-Shigella* que os demais tratamentos (pH<sub>3,40</sub> 4%, pH<sub>7,39</sub> 18%, e pH<sub>5,31</sub> 48%) (Figura 9). O uso de ácidos na dieta de leitões como alternativa/redução ao uso de antibióticos modulou a microbiota intestinal de leitões desmamados e aumentou a população de *Lactobacillus*, reduzindo a abundância relativa de *Escherichia-Shigella* (MA et al., 2021), como observado no presente estudo em dieta hídrica.

Embora os tratamentos não promoveram modulação da riqueza, uniformidade ou diversidade da microbiota intestinal, os animais tratados com pH<sub>3,40</sub> apresentaram abundância relativa menor de *Escherichia-Shigella*, bem como do seu táxon superior (Enterobacteriaceae) comparados àqueles do tratamento pH<sub>5,31</sub> e pH<sub>7,39</sub>. Esses resultados demonstraram que a redução do pH da água de bebida em 3,40 usando uma mistura

comercial de ácidos orgânicos e inorgânicos a base de ácido cítrico, ascórbico e fosfórico para leitões de creche via água de bebida de forma contínua pode reduzir a carga de bactérias do gênero *Escherichia*, em especial a *E. coli* na excreção fecal, como evidenciado também por Busser et al. (2011).

### 3.4 Conclusão

A acidificação da água de bebida em pH<sub>3,40</sub> usando uma mistura comercial de ácidos orgânicos e inorgânicos para leitões de creche alimentados com dietas comerciais aumenta o potencial de oxirredução da água e promove maior peso de órgãos com funções metabólicas e imune, diminui a mortalidade e promove alterações benéficas no perfil sanguíneo. Além disso, a acidificação da água de bebida não compromete o desempenho zootécnico, nem a histologia intestinal em leitões, mas melhora a saúde intestinal aumentando a família Lactobacilaceae e reduzindo, significativamente, a família Enterobacteriaceae.

### 3.5 Referências

- AHMED, S.; HWANG, J.; HOON, J.; MUN, H.; YANG, C. Comparison of Single and Blend Acidifiers as Alternative to Antibiotics on Growth Performance, Fecal Microflora, and Humoral Immunity in Weaned Piglets. **Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 1, p.93-100, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13411>>. Acesso em: 15/03/2023.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. 2019. **Official methods of analysis**. Rockville (MD): Association of Official Analytical Chemists.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)>. Acesso em: 20/02/2023.
- BRASIL, **Resolução Normativa nº 37 de 15 de fevereiro de 2018 do CONCEA**. Dispõe sobre a Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - Concea, 2018. Disponível em: [https://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/4030569/do1-2018-02-22-resolucao-normativa-n-37-de-15-de-fevereiro-de-2018-4030565](https://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/4030569/do1-2018-02-22-resolucao-normativa-n-37-de-15-de-fevereiro-de-2018-4030565). Acesso em 02/04/2023.
- BUBLITZ, D.A.C.; WRIGHT, P.C.; BODAGER, J.R.; RASAMBAINARIVO, F.T.; BLISKA, J.B.; GILLESPIE, T.R. Epidemiology of pathogenic enterobacteria in humans, livestock, and peridomestic rodents in rural Madagascar. **PLoS One**, v. 9, n. 7, p. e101456, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101456>>. Acesso em: 18/11/2022.
- BUSSER, E.V.; DEWULF, J.; ZUTTER, L.P.; HAESBROUCK, F.; CALLENS, J.; MEYNS, T.; MAES, W.; MAES, D. Effect of administration of organic acids in drinking water on faecal shedding of *E. coli*, performance parameters and health in nursery pigs. **The Veterinary Journal**, v. 188, n. 2, p. 184–188, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.04.006>>. Acesso em: 15/12/2022.
- CANIBE, N.; HØJBERG, O.; KONGSTED, H.; VODOLAZSKA, D.; LAURIDSEN, C.; NIELSEN, T.S.; SCHÖNHERZ, A.A. Review on Preventive Measures to Reduce Post-Weaning Diarrhoea in Piglets. **Animals**, v. 12, e. 2585, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani12192585>. Acesso em: 26/01/2023.
- CAPORASO, J.; KUCZYNSKI, J.; STOMBAUGH, J.; et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, v. 7, p. 335–336, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>>. Acesso em: 16/02/2023.
- CAPORASO, J.G.; LAUBER, C.L.; WALTERS, W.A.; BERG-LYONS, D.; LOZUPONE, C.A.; TUMBAUGH, P.J.; FIERER, N.; KNIGHT, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **PNAS**, v. 108, n. S1, p. 4516-4522, 2011. Disponível em:



<<https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107>>. Acesso em: 16/02/2023.

CERÓN, J.J.; ECKERSALL, P.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 2, p. 85-99, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2005.tb00019.x>>. Acesso em: 07/12/2022.

COHEN, J.; POWDERLY, W.G.; OPAL, S.M. **Infectious Diseases**. 4 ed. New York: Elsevier, 2016.

DEGNAN, P.H.; OCHMAN, H. Illumina-based analysis of microbial community diversity. **ISME Journal**, v. 6, n. 1, p. 183-194, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/ismej.2011.74>>. Acesso em: 20/02/2023.

DENCK, F.M.; HILGEMBERG, J.O.; LEHNEN, C.R. Uso de acidificantes em dietas para leitões em desmame e creche. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 256, p. 629-638, 2017.

DENG, Q.; SHAO, Y.; WANG, Q.; LI, J.; LI, Y.; DING, X.; HUANG, P.; YIN, J.; YANG, H.; YIN, Y. Effects and interaction of dietary electrolyte balance and citric acid on growth performance, intestinal histomorphology, digestive enzyme activity and nutrient transporters expression of weaned piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 105, n. 2, p. 272-285, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jpn.13491>>. Acesso em: 06/04/2023.

ECKERSALL, P.D.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v. 185, n. 1, p. 23-27, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.04.009>>. Acesso em: 24/02/2023.

ELEFSON, S.K.; LU, N.; CHEVALIER, T.; DIERKING, S.; WANG, D.; MONEGUE, H.J.; ... LINDEMANN, M. D. Assessment of visceral organ growth in pigs from birth through 150 kg. **Journal of Animal Science**, v. 99, n. 9, skab249, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jas/skab249>>. Acesso em: 16/03/2023.

ESCUREDO, J.A.M.; HORST, Y.V.D.; CARR, J; MAES, D. Implementing drinking water feed additive strategies in post-weaning piglets, antibiotic reduction and performance impacts: case study. **Porcine Health Management**, v. 2, n. 25, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40813-016-0043-0>>. Acesso em: 13/11/2022.

GAO, R.; YUAN, Z.; ZHAO, Z.; GAO, X. Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 45, n. 1, p. 41-45, 1998. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(98\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(98)00072-5)>. Acesso em: 19/02/2023.

GIANOTTI, C.G.; BEHEREGARAY, W.K.; BIANCHI, S.P. et al. Suíno como modelo experimental na pesquisa biomédica: valores fisiológicos normais. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, n. 2, p. 133-137, 2010.

- GIBIINO, G.; LOPETUSO, L.R.; SCALDAFERRI, F.; RIZZATTI, G.; BINDA, C.; GASBARRINI, A. Exploring Bacteroidetes: Metabolic key points and immunological tricks of our gut commensals. **Digestive and Liver Disease**, v. 50, n. 7, p. 635–639, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.dld.2018.03.016>>. Acesso em: 14/03/2023.
- GOMES, E. B.; PEREIRA, H. C. P. Interpretação de gasometria arterial. **Vitalle – Revista de Ciências da Saúde**, v. 33, n. 1, p. 203-218, 2021.
- GONCHARUK, V.V.; BAGRII, V.A.; MEL'NIK, L.A. et al. The use of redox potential in water treatment processes. **Journal of Water Chemistry and Technology**, v. 32, p. 1–9, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.3103/S1063455X10010017>>. Acesso em: 13/01/2023.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. ePub rev., atual. e ampl. Porto Alegre: [s.n.], 2022. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/218155>>. Acesso em: 10/02/2023.
- GRANDO, M.A.; COSTA, V.; GENOVA, J.L. et al. Blend of essential oils can reduce diarrheal disorders and improve liver antioxidant status in weaning piglets. **Animal Bioscience**, v. 36, n. 1, p. 119-131, 2023.
- GRECCO, H.A.; AMORIM, A.B.; SALEH, M.A.; TSE, M.L.; TELLES, F.G.; MIASSI, G.M.; BERTO, D.A. Evaluation of growth performance and gastro-intestinal parameters on the response of weaned piglets to dietary organic acids. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 401-414, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0001-3765201820160057>>. Acesso em: 10/12/2022.
- GRESSE, R.; DURAND, F.C.; DUNIÈRE, L.; BLANQUET-DIOT, S.; FORANO, E. Microbiota composition and functional profiling throughout the gastrointestinal tract of commercial weaning piglets. **Microorganisms**, v. 7, n. 9, p. 343, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/microorganisms7090343>>. Acesso em: 13/01/2023.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 5 ed. Oxford University Press, New York, 2015, 896p.
- HERSEY-BENNER, C. **Protein total**. In: MAYER J, DONNELLY TM, editors. Clinical veterinary advisor: birds and exotics pets. Saunders, 2013, p. 784. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/C2009-0-36486-7>>. Acesso em: 23/01/2023.
- ISAACSON, R.; KIM, H.B. The intestinal microbiome of the pig. **Animal Health Research Reviews**, v. 13, n. 1, p. 100-109, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S1466252312000084>>. Acesso em: 16/03/2023.
- JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: As diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, n. 1, p. 118, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.4103/0975-7406.76489>>. Acesso em: 20/11/2022.

- KRAIESKI, A.L.; HAYASHI R.M.; SANCHES, A.; ALMEIDA, G.C; SANTIN, E. Effect of aflatoxin experimental ingestion and Eimeira vaccine challenges on intestinal histopathology and immune cellular dynamic of broilers: applying an Intestinal Health Index. **Poultry Science**, v. 96, n. 5, p. 1078-1087, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3382/ps/pew397>>. Acesso em: 16/03/2023.
- LAHTI, L.; SHETTY, S. **Introduction to the microbiome R package**.2018. Disponível em: <<https://microbiome.github.io/tutorials/>>. Acesso em: 20/11/2022.
- LE SCIELLOUR, M.; RENAUDEAU, D.; ZEMB, O. Longitudinal analysis of the microbiota composition and enterotypes of pigs from post-weaning to finishing. **Microorganisms**, v. 7, n. 12, p. 622, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/microorganisms7120622>>. Acesso em: 06/04/2023.
- LINGBEEK, M.M.; BOREWICZ, K.; FEBERY, E.; HAN, Y.; DOELMAN, J.; KUIJK, S.J.A.V. Short-chain fatty acid administration via water acidifier improves feed efficiency and modulates fecal microbiota in weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v. 99, n. 11, skab307, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jas/skab307>>. Acesso em: 26/03/2023.
- LUO, C.; XIA, B.; ZHONG, R.; SHEN, D.; LI, J.; CHEN, L.; ZHANG, H. Early-life nutrition interventions improved growth performance and intestinal health via the gut microbiota in piglets. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, 2021, p. 1135, n. 11, skab307, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fnut.2021.783688>>. Acesso em: 15/03/2023.
- MA, J.; PIAO, X.; SHANG, Q.; LONG, S.; LIU, S.; MAHFUZ, S. Mixed organic acids as an alternative to antibiotics improve serum biochemical parameters and intestinal health of weaned piglets. **Animal Nutrition**, v. 7, n. 3, p. 737–749, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.11.018>>. Acesso em: 23/02/2023.
- MAGNE, F.; GOTTELAND, M.; GAUTHIER, L.; ZAZUETA, A.; PESOA, S.; NAVARRETE, P.; BALAMURUGAN, R. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio: A relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1474, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/nu12051474>>. Acesso em: 18/02/2023.
- MCMURDIE, P.J.; HOLMES, S. Phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS One**, v. 8, e61217, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>>. Acesso em: 20/12/2022.
- MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. **Veterinary laboratory medicine: interpretation and diagnosis**. 3 ed. St Louis: W.B. Saunders, 2004, p. 351.
- MOLIST, F.; MANZANILLA, E.G.; PÉREZ, J.F.; NYACHOTI, C.M. Coarse, but not finely ground, dietary fibre increases intestinal Firmicutes:Bacteroidetes ratio and

- reduces diarrhoea induced by experimental infection in piglets. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 1, p. 9–15, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S0007114511005216>>. Acesso em: 10/11/2022.
- MULDER, I.E.; SCHMIDT, B.; STOKES, C.R.; LEWIS, M.; BAILEY, M.; AMINOV, R.I.; PROSSER, J.I.; GILL, B.P.; PLUSKE, J.R.; MAYER, C.D.; MUSK, C.C.; KELLY, D. Environmentally-acquired bacteria influence microbial diversity and natural innate immune responses at gut surfaces. **BMC Biology**, v. 7, n. 1, p. 79, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1741-7007-7-79>>. Acesso em: 23/03/2023.
- NAKANDALAGE, R.; GUAN, L.L.; MALMUTHUGE, N. Microbial Interventions to Improve Neonatal Gut Health. **Microorganisms**, v. 11, n. 5, p. 1328, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/microorganisms11051328>>. Acesso em: 17/12/2022.
- NGUYEN, D.H.; SEOK, W.J.; KIM, I.H. Organic Acids Mixture as a Dietary Additive for Pigs-A Review. **Animals**, v. 10, n. 6, 952, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ani10060952>>. Acesso em: 07/04/2023.
- NOWAK, P.; ZAWORSKA-ZAKRZEWSKA, A.; FRANKIEWICZ, A.; KASPROWICZ-POTOCKA, M. The effects and mechanisms of acids on the health of piglets and weaners – a review. **Annals of Animal Science**, v. 21, p. 433–455, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0088>>. Acesso em: 09/03/2023.
- NYBLOM, H.; BERGGREN, U.; BALLDIN, J.; OLSSON, R. High AST/ALT ratio may indicate advanced alcoholic liver disease rather than heavy drinking. **Alcohol Alcohol**, v. 39, n. 4, p. 336–339, 2004. <<https://doi.org/10.1093/alcalc/agh074>>. Acesso em: 16/02/2023.
- OBALLEYE, J.; AKINREMI, C.; BALOGUN, E.; ADEBAYO, J. Toxicological studies and antimicrobial properties of some Iron (III) complexes of Ciprofloxacin. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 24, p. 2826–2832, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2451>>. Acesso em: 22/02/2023.
- OLIVEIRA JÚNIOR, J.M.; MENDES, A.R.; MONTES, J.H.; ALVES, B.R.; MOREIRA, F.; BIANCHI, I.; SCHWEGLER, E.; PERIPOLLI, V. Acidifiers blend on digestibility, blood metabolites and performance of nursery piglets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 74, n. 1, p. 185–194, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-12464>>. Acesso em: 16/12/2022.
- PARTANEN, K.H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v. 12, n.1, p. 117–145, 1999. Disponível em: <<https://doi.org/10.1079/095442299108728884>>.
- PEARLIN, B.V.; MUTHUVEL, S.; GOVIDASAMY, P.; VILLAVAN, M.; ALAGAWANY, M.; RAGAB FARAG, M.; DHAMA, K.; GOPI, M. Role of

- acidifiers in livestock nutrition and health: A review. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 104, n. 2, p.558–569, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jpn.13282>>. Acesso em: 23/11/2022.
- PICKARD, J.M.; ZENG, M.Y.; CARUSO, R.; NÚÑEZ, G. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses and inflammatory disease. **Immunological Reviews**, v. 279, n. 1, p. 70–89, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/imr.12567>>. Acesso em: 20/03/2023.
- RAO, D. S.; McCracken, K. J. Energy: protein interactions in growing boars on high genetic potential for lean growth: 1 effects on growth, carcass characteristics and organ weights. **Animal Production**, v. 54, p. 75-82, 1992.
- RAVINDRAN, V.; KORNEGAY, E.T. Acidification of weaner pig diets: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 62, n. 4, p. 313-322, 1993. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740620402>>. Acesso em: 10/04/2023.
- REGOLI, F.; PRINCIPATO, G. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. **Aquatic Toxicology**, v. 31, p. 143-164, 1995. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0166-445X\(94\)00064-W](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00064-W)>. Acesso em: 16/12/2023.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.L.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2017. 488p.
- RYCHLIK, I. Composition and function of chicken gut microbiota. **Animals**, v.10, n. 1, p. 103, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ani10010103>>. Acesso em: 19/12/2022.
- SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos**. 2 ed. São Paulo: Funep, 2016, 262 p.
- SEKIROV, I.; RUSSELL, S.L.; ANTUNES, L.C.; FINLAY, B.B. Gut microbiota in health and disease. **Physiological Reviews**, v. 90, n.3, p. 859–904, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>>. Acesso em: 15/03/2023.
- STOJANOV, S.; BERLEC, A.; ŠTRUKELJ, B. The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. **Microorganisms**, v. 8, n. 11, p. 1715, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/microorganisms8111715>>. Acesso em: 20/11/2022.
- SUIRYANRAYNA, M.V.; RAMANA, J.V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 45, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40104-015-0042-z>>. Acesso em:

18/02/2023.

- SUN, J.; DU, L.; LI, X.L.; ZHONG, H.; DING, Y.; LIU, Z.; GE, L. Identification of the core bacteria in rectums of diarrheic and non-diarrheic piglets. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-55328-y>>. Acesso em: 20/03/2023.
- THRALL, M.A.; WEISER, G.; CAMPBELL, T.; ALLISON, R.W. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Reino Unido: Wiley, 2012, p. 32-39.
- THACKER, P.A.; SALOMONS, M.O.; AHERNE, F.X.; MILLIGAN, L.P.; BOWLAND, J. P. Influence of propionic acid on the cholesterol metabolism of pigs fed hypercholesterolemic diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 61, n. 4, p. 969-975, 1981. Disponível em: <<https://doi.org/10.4141/cjas81-119>>. Acesso em: 12/12/2022.
- TURNBAUGH, P.; LEY, R.; MAHOWALD, M.; MAGRINI, V.; MARDIS, E.R.; GORDON, J.I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, v. 444, p. 1027–1031, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nature05414>>. Acesso em: 10/12/2022.
- UYEDA, K.; REPA, J.J. Carbohydrate response element binding protein, ChREBP, a transcription factor coupling hepatic glucose utilization and lipid synthesis. **Cell Metabolism**, v. 4, n. 2, p. 107–110, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.06.008>>. Acesso em: 20/11/2022.
- WALSH, M.C.; SHOLLY, D.M.; HINSON, R.B.; SADDORIS, K.L.; SUTTON, A.L.; RADCLIFF, J.S.; ODGAARD, R.; MRPHY, J.; RICHERT, B.T. Effects of water and diet acidification with and without antibiotics on weanling pig growth and microbial shedding. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 7, p. 1799-1808, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/jas.2006-049>>. Acesso em: 07/04/2023.
- WANG, J.; JI, H.F.; WANG, S.X.; ZHANG, D.Y.; LIU, H.; SHAN, D.C.; WANG, Y.M. *Lactobacillus plantarum* ZLP001: In vitro assessment of antioxidant capacity and effect on growth performance and antioxidant status in weaning piglets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 8, p. 1153-1158, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12079>>. Acesso em: 16/12/2022.
- WEI, X.; TSAI, T.; HOWE, S.; ZHAO, J. Weaning Induced Gut Dysfunction and Nutritional Interventions in Nursery Pigs: A Partial Review. **Animals**, v. 11, n. 5, e.1279, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ani11051279>>. Acesso em: 10/11/2022.
- XU, Q.-L.; LIU, C.; MO, X.-J.; CHEN, M.; ZHAO, X.-L.; LIU, M.-Z.; WANG, S.-B.; ZHOU, B.; ZHAO, C.-X. Drinking water supplemented with acidifiers improves the growth performance of weaned pigs and potentially regulates antioxidant capacity, immunity, and gastrointestinal microbiota diversity. **Antioxidants**, v. 11, p. 809, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/antiox11050809>>. Acesso em:

18/03/2023.

YILMAZ, P.; PARFREY, L. W.; YARZA, P.; GERKEN, J.; PRUESSE, E.; QUAST, C.; SCHWEER, T.; PEPLIES, J.; LUDWIG, W.; GLÖCKNER, F.O. The SILVA and “All-species Living Tree Project (LTP)” taxonomic frameworks. **Nucleic Acids Research**, n. 42, p. 643-648, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/nar/gkt1209>>. Acesso em: 20/03/2023.

ZHAN, X. A.; WANG, M.; XU, Z.R.; LI, W.F.; LI, J.X. Effects of fluoride on hepatic antioxidant system and transcription of Cu/Zn SOD gene in young pigs. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 20, n. 2, p. 83-87, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.11.003>>. Acesso em: 16/12/2022.

ZHANG, L.; WU, W.; LEE, Y.K.; XIE, J.; ZHANG, H. Spatial heterogeneity and co-occurrence of mucosal and luminal microbiome across swine intestinal tract. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 48, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00048>>. Acesso em: 12/03/2023.

ZHENG, L.; DUARTE, M.E.; SEVAROLLI LOFTUS, A.; KIM, S.W. Intestinal Health of Pigs Upon Weaning: Challenges and Nutritional Intervention. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, e.628258, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.628258>. Acesso em: 18/02/2023.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A acidificação da água de bebida dos leitões para pH de 3,40 com o produto comercial composto a base de ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido fosfórico e fosfato monossódico, nucleotídeos e realçadores de sabor, tem efeitos de:

- Aumentar o potencial de oxirredução da água;
- Aumentar os grupos de populações bacterianas benéficas ao organismo como *Lactobacillus* e demais bactérias do Filo Firmicutes, e inibir as da família Enterobacteriaceae no trato gastrointestinal dos leitões;
- Influenciar no peso do estômago vazio, baço, e fígado com vesícula biliar;
- Não interferir no comprimento do intestino delgado;
- Não influenciar na morfometria das células intestinais de leitões;
- Não alterar a gasometria sanguínea;
- Não modificar as atividades enzimáticas da superóxido dismutase e glutationala peroxidase.

A acidificação da água de bebida dos leitões para pH de 3,40 é benéfica para saúde dos leitões após o desmame.