

NÍVEIS DE LIGNINA KRAFT NA DIETA DE LEITÕES DESMAMADOS NÃO ALTERA A DIVERSIDADE DA MICROBIOTA E A PRODUÇÃO DE AGCC

Silvia Letícia Ferreira^{1*}, Patrícia Versuti Arantes Alvarenga¹, Geysane Farias de Oliveira¹,
Bruna Cristina Prado de Melo¹, Letícia Garbin Ribeiro da Silva¹, Dênis Ricardo Avistá
Ramos, Marcos Livio Panhoza Tse¹

¹ Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Botucatu, SP. Autor correspondente: silvia.leticia@unesp.br

Apresentado no
19º Seminário Técnico Científico de Aves, Suínos e Peixes
5º Congresso de Zootecnia de Precisão
AveSui 2021 – 13 a 15 de abril de 2021

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos de níveis de lignina kraft na dieta de leitões desmamados sobre a microbiota intestinal e a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no 14º dia de experimento (35 dias de idade). Foram usados 32 leitões, com idade média de 21 dias ($5,46 \pm 0,65$ kg) foram distribuídos em delineamento de blocos casualizados, com quatro tratamentos e oito repetições cada. As dietas foram: ANT= dieta basal (DB) + 120 ppm de Halquinol; L_{0,5}= DB + 0,5% de lignina; L_{1,0}= DB + 1,0% de lignina; L_{1,5}= DB + 1,5% de lignina. No 14º dia do experimento, oito animais por tratamento foram abatidos para avaliação de concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e a contagem de coliformes, de *Escherichia coli*, de bactérias ácido-láticas, de *Clostridium* sulfito-redutores e de Salmonella. Não houve efeito das dietas ($P > 0,05$) sobre a composição da microbiota e sobre a concentração de AGCC do conteúdo do ceco dos leitões, aos 35 dias de idade. Conclui-se que a inclusão de lignina nos níveis testados proporciona a mesma composição da microbiota e padrão de produção de ácidos graxos de cadeia curta, em relação ao antimicrobiano como promotor do crescimento.

PALAVRAS-CHAVE: fermentação, nutrição, prebióticos, suínos

ABSTRACT: The objective of the trial was to evaluate the effects of levels of kraft lignin in the diet of weaned piglets on the intestinal microbiota and the production of short-chain fatty acids. Were used 32 piglets with 21 days of age (5.46 ± 0.65 kg) were distributed in a randomized block design, with four treatments and eight repetitions. The diets were: CP = Basal diet (DB) + antimicrobial (120 ppm halquinol - Chlorohydroxyquinoline 60%); L_{0.5} = DB + 0.5% lignin; L_{1.0} = DB + 1.0% lignin; L_{1.5} = DB + 1.5% lignin. On the 14th day of the experiment, eight animals per treatment were slaughtered for analysis of concentration of short-chain fatty acids (SCFA), coliforms counts, *Escherichia coli*, lactic-acid bacteria, sulfite-reducing *Clostridium* and Salmonella. There was no effect of the diets ($P > 0.05$) on the microbiota composition and SCFA concentration at 35 days of age. In conclusion, the inclusion of levels of lignin studied may lead to the same microbiota composition and cecum acids concentration profile compared to antibiotic growth promoter.

KEYWORDS: fermentation, nutrition, prebiotics, swine

INTRODUÇÃO: Os prebióticos são substâncias não digestíveis ou absorvíveis que atuam de forma seletiva sobre a microbiota intestinal favorecendo o crescimento de bactérias benéficas (*Bifidobacterium e Lactobacillus*) (GIBSON e ROBERFROID, 1995) que competem com os patógenos por nutrientes e por locais de adesão no epitélio intestinal e auxiliam na fermentação de ingredientes e carboidratos não digestíveis produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (acético, propiônico e butírico) (ROBERFROID *et al.*, 1995; GUARNER e MALAGELADA, 2003). Os AGCC estimulam a proliferação das células do epitélio intestinal e auxiliam na manutenção de sua integridade que serve como barreira física a entrada de patógenos e regula a passagem de eletrólitos e água dos tecidos para o lúmen intestinal. Por serem estruturalmente distintas da lignina nativa presente a madeira (CONSTANT *et al.*, 2016; CRESTINI *et al.*, 2017) as ligninas (Alcell®, purificada ou Kraft) oriundas do processo de polpação da madeira têm sido estudadas por sua capacidade de inibir algumas bactérias patogênicas e por seus efeitos sobre a microbiota intestinal indicando possível ação prebiótica (BAURHOO, RUIZ-FERIA e ZHAO, 2008). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de níveis de lignina Kraft na dieta de leitões desmamados sobre microbiota intestinal e o produção de AGCC no período pós desmame.

MATERIAL E MÉTODOS: O experimento foi realizado na Unidade de Pesquisa de Suínos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus Botucatu (Comitê de Ética no Uso de Animais - protocolo 0043/2019) com 32 leitões cruzados e desmamados com peso corporal inicial de 5,460 + 0,65kg (21 dias de idade), distribuídos num delineamento em blocos casualizados, com quatro tratamentos, oito repetições. Os animais receberam alimentação *ad libitum* (0-14 dias = pré-inicial I; formulada de acordo com Rostagno *et al.* (2017). As dietas foram: ANT= dieta basal (DB) + 120 ppm de Halquinol (clorohidroquinolina 60%); L_{0,5}= DB + 0,5% de lignina; L_{1,0}= DB + 1,0% de lignina; L_{1,5}= DB + 1,5% de lignina. No 14º dia do experimento os animais foram abatidos por meio de sangria posterior à eletronarose. O conteúdo do ceco de cada animal foi diluído com água peptonada tamponada (APT) a 0,1%, para obter as diluições de 10⁻¹ até 10⁻⁹. As contagens de coliformes a 35°C e de *Escherichia coli* foram realizadas transferindo-se 1 mL de cada uma das diluições para placas de Petrifilm (Placa 3M™ Petrifilm™) conforme especificação do fabricante. Para a contagem de bactérias ácido-láticas, *Clostridium* sulfito-redutores e de Salmonella, utilizaram-se as metodologias descritas por Njongmeta *et al.* (2013), Silva *et al.* (2017) e Andrews *et al.* (2007), respectivamente. A avaliação da concentração de AGCC no conteúdo do ceco, foi realizada conforme metodologia descrita por Ferreira *et al.* (2016). Os dados foram submetidos à análise de variância (P≤0,05) e regressão polinomial, utilizando-se o procedimento PROC GLM do SAS® (2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Não houve efeito dos tratamentos (P>0,05) sobre a composição da microbiota e a concentração de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo do ceco dos leitões, aos 35 dias de idade (Tabelas 1 e 2). A ausência de efeitos das dietas sobre as variáveis microbiológicas e de concentração AGCC do ceco dos leitões pode ter ocorrido devido ao ambiente experimental controlado, sem grande desafio sanitário, e a utilização de ingredientes altamente digestíveis na dieta dos animais, que podem ter contribuído para a manutenção da estabilidade da microbiota comensal do TGI (WAAIJ, 1989) e, conseqüentemente do padrão de fermentação e produção dos AGCC (CASTILLO *et al.*, 2008), em relação ao antimicrobiano. Além disso, todas dietas experimentais foram formuladas com a inclusão de

óxido de zinco, o qual possui capacidade bactericida contra bactérias gram-negativas, sobretudo *E. coli* (SAWAI et al., 1998). A avaliação de aditivos em dietas animais, tomando-se como base a formulação das dietas com o uso de ingredientes utilizados na prática na suinocultura, é essencial para que o efeito destes aditivos não sejam sub ou superestimados.

Tabela 1. Quantificação microbiológica (log CFU/g) do conteúdo do ceco dos animais aos 35 dias de idade (14º dia de experimento)

Variáveis	Tratamentos ¹					
	ANT	L _{0,5}	L _{1,0}	L _{1,5}	CV ²	P
Coliformes totais	5,48	4,80	5,35	5,60	15,60	0,490
<i>Escherichia coli</i>	5,27	4,66	5,22	5,31	17,27	0,696
Bactérias lácticas	7,21	6,51	6,67	6,77	9,27	0,091
<i>Clostridium SR</i> ³	ausente	ausente	ausente	ausente	-	-
<i>Salmonella spp.</i> ⁴	ausente	ausente	ausente	ausente	-	-

¹ANT = dieta com 120 ppm de Halquinol; L_{0,5} = dieta com 0,5% de lignina; L_{1,0} = dieta com 1,0% de lignina; L_{1,5} = dieta com 1,5% de lignina; ²CV= Coeficiente de variação (%); ³*Clostridium SR*= *Clostridium* sulfito redutor; ⁴Conteúdo do ceco (25 g).

Tabela 2. Concentração (mmol/L) de ácidos graxos de cadeia curta do ceco dos leitões aos 35 dias de idade

Variáveis	Tratamentos ¹					
	ANT	L _{0,5}	L _{1,0}	L _{1,5}	CV ²	P
AGCCT ³	113,64	106,41	111,57	102,34	23,65	0,423
Acético	73,30	68,63	68,28	64,33	24,69	0,346
Propiônico	24,11	20,62	23,46	20,05	25,22	0,357
Butírico	13,40	14,09	16,71	15,61	33,57	0,547

¹ANT = dieta com 120 ppm de Halquinol; L_{0,5} = dieta com 0,5% de lignina; L_{1,0} = dieta com 1,0% de lignina; L_{1,5} = dieta com 1,5% de lignina; ²CV= Coeficiente de variação (%). ³Ácidos graxos de cadeia curta totais.

CONCLUSÕES: Conclui-se que a inclusão de lignina nos níveis testados proporciona a mesma composição da microbiota e padrão de produção de ácidos graxos de cadeia curta, em relação ao antimicrobiano como promotor do crescimento.

REFERÊNCIAS

ANDREWS, W.H., WANG, H., JACOBSON, A., HAMMACK, T. BAM: Salmonella. **FDA Bacteriological Analytical Manual**, 1–21, 2007.

CASTILLO, M., MARTÍN-ORÚE, S.M., TAYLOR-PICKARD, J.A., PÉREZ, J.F., GASA, J. Use of mannanoligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: Effects on microbiota and gut function. **Journal of Animal Science**, v.86, p.94–101, 2008.

CONSTANT, S.; WIENK, H. L. J.; FRISSEN, A. E.; PEINDER, P. DE; BOELEN, R.; ES, D. S. VAN; GRISEL, R. J. H.; WECKHUYSEN, B. M.; HUIJGEN, W. J. J.; GOSSELINK,

5º Congresso Brasileiro de Zootecnia de Precisão (CBZP) e 19º Seminário Técnico Científico de Aves, Suínos, Bovinos e Peixes (ASBP)

- R. J. A.; BRUIJNINCX, P. C. A. New insights into the structure and composition of technical lignins: A comparative characterisation study. **Green Chemistry**, v.18, p.2651–2665, 2016.
- CRESTINI, C.; LANGE, H.; SETTE, M.; ARGYROPOULOS, D. S. On the structure of softwood kraft lignin. **Green Chemistry**, v.19, p.4104–4121, 2017.
- FERREIRA, E.M., PIRES, A.V., SUSIN, I., BIEHL, M.V., GENTIL, R.S., PARENTE, M. de O. M., POLIZEL, D.M., VAZ DI MAMBRO RIBEIRO, C., de ALMEIDA, E. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. **Animal Feed Science and Technology**, v.216, p.30–39, 2016.
- GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of nutrition**, v.125, p.1401–12, 1995.
- GUARNER, F.; MALAGELADA, J.-R. Gut flora in health and disease Francisco. **The Lancet**, v.360, p.512–519, 2003.
- NJONGMETA, N.A., HALL, P.A., LEDENBACH, L., Flowers, R.S.S.E. Acid-Producing Microorganisms, in: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 2013, 995 p.
- ROBERFROID, M. B.; BORNET, E.; BOULEY, C.; CUMMINGS, J. H. Colonic Microflora: Nutrition and Health. Summary and Conclusions of an International Life Sciences Institute (ILSI) [Europe] Workshop held in Barcelona, Spain. **Nutrition Reviews**, v.53, p.127–130, 1995.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. EUCLIDES, R. F. Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: Imprensa Universitária/UFV, 2017, 252 p.
- SAWAI, J., SHOJI, S., IGARASHI, H., HASHIMOTO, A., KOKUGAN, T., SHIMIZU, M., KOJIMA, H. Hydrogen peroxide as an antibacterial factor in zinc oxide powder slurry. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v.86, p.521–522, 1998.
- SILVA, N. DA, JUNQUEIRA, V.C.A., SILVEIRA, N.F. DE A., TANIWAKI, MARTA HIROMI GOMES, R.A.R., OKAZAKI, M.M. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água., 5º ed, Editora Edgard Blücher Ltda. Edgard Blücher Ltda., São Paulo. 2017. 560 p.
- WAAIJ, V.D. The ecology of the human intestine and its consequences for overgrowth by pathogens such as clostridium difficile. **Annual Review of Microbiology**, v.43, p.69–87, 1989.