UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

GUSTAVO DO VALLE POLYCARPO

**Dietas para frangos de corte contendo diferentes fontes lipídicas
suplementadas ou não com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos**

Pirassununga

2015

GUSTAVO DO VALLE POLYCARPO

**Dietas para frangos de corte contendo diferentes fontes lipídicas suplementadas ou não
com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Pirassununga

2015

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.3111
FMVZ

Polycarpo, Gustavo do Valle
Dietas para frangos de corte contendo diferentes fontes lipídicas suplementadas ou não com
lisofosfolipídios e ácidos orgânicos / Gustavo do Valle Polycarpo. -- 2015.
128 f. :il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2015.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque.

1. Acidificantes. 2. Ácidos graxos. 3. Lisofosfatidilcolina. 4. Óleo de soja. 5. Sebo bovino.
I. Título.

CERTIFICAÇÃO DE ÉTICA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Dietas para frangos de corte contendo diferentes fontes lipídicas suplementadas ou não com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos", protocolado sob o nº 2737/2012, utilizando 3072 (três mil e setenta e dois) frangos de corte, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 15/8/2012.

We certify that the Research "Diets for broiler chickens containing different lipid sources supplemented with or without lysophospholipids and organic acids", protocol number 2737/2012, utilizing 3072 (three thousand and seventy-two) broilers, under the responsibility Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 8/15/2012.

São Paulo, 16 de agosto de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: POLYCARPO, Gustavo do Valle

Título: **Dietas para frangos de corte contendo diferentes fontes lipídicas suplementadas ou não com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

HOMENAGEM

Já estava mais do que na hora de homenagear minha grande incentivadora. Ainda não havia o feito porque sou assim: preciso das emoções para encontrar as palavras, assim como é necessário uma catapulta para lançar. O sentimento nos enche como uma panela de pressão. E, é nesse momento, com a panela ao ponto de estourar que busco inspiração para honrar tamanha devoção.

Não é atoa que lembro dos meus grandes professores. Eles criavam músicas a partir de fórmulas e buscavam constantemente novas práticas pedagógicas para nos ajudar a entender as informações. Esse malabarismo com o conhecimento deixava uma mensagem clara para mim, mas que, muito embora, era indefinida como ideia. Situação semelhante é quando temos a palavra ainda não dita que está na ponta da língua. Eu sabia que era magnífico, mas não sabia por quê. Algum tempo depois a palavra iminente foi verbalizada. Ora, como é possível ensinar, como é possível educar sem haver paixão pelo que faz?

O conhecimento científico pode ser encontrado na página de um artigo. Artigo? Eu já não era mais um menino mas mal sabia o significado dessa palavra. O último ano de faculdade foi um período de incertezas, no qual eu não tinha crédito algum, talvez por culpa da minha falta de brilhantismo como aluno. Foi naquele momento que procurei a professora Valquíria, naturalmente detentora das qualidades que são tão necessárias e tão desejadas em um professor. Me lembro bem, eu estava ansioso e criando expectativa: será que ela me ajudaria a conseguir um estágio? Fui em busca de esperança com “uma mão na frente e outra atrás”. Tudo que eu tinha para oferecer, aliás, tudo que eu tinha para pedir, era para ela confiar em mim porque se houvesse uma oportunidade eu iria fazer de tudo para não decepcionar.

Uma semana depois fiquei comovido com tamanha generosidade e preocupação. Numa velocidade incomum meu estágio de quinto ano estava acertado. Eu precisava dessa ajuda e estava disposto a não decepcionar. Foi extremamente importante pra mim trabalhar numa empresa, mesmo como estagiário. Aliás (risos), hoje vejo que ser estagiário tem suas vantagens. Fui beneficiado por poder trabalhar na Korin, sob supervisão de Luiz Carlos Demattê Filho, que me acolheu com muita dedicação e paciência.

Logo depois da minha formatura fui fazer mestrado e as dificuldades voltaram. E quem estava lá para me amparar? Num final de semana a noite eu estava sendo tranquilizado por telefone pela professora Valquíria. Mesmo que esse apoio se resumisse a uma simples questão de força psicológica para seguir em frente. Ela dizia: não se preocupe, estamos juntos

nessa. Isso me emociona, até hoje, inclusive nesse momento. Lembro com detalhes daquela noite escura. Era tarde da noite e eu estava preocupado com o projeto de pesquisa, sentado num sofá de couro branco que ficava na sala de televisão da casa dos meus pais. Ao desligar o telefone me senti mais confiante. Eu estava vitalizado para continuar. Em toda essa maratona a professora Valquíria não ajudou a formar um zootecnista simplesmente, ela estava ajudando a formar a pessoa que sou hoje.

De lá pra cá, fiz tudo que pude para tentar retribuir tamanha dedicação. Amor gera amor, não é mesmo? Acredito que não. No máximo podemos lapidá-lo ou trabalhá-lo. Isso porque me refiro ao verdadeiro amor, enraizado na imensidão da essência divina. Uma mãe não ama mais ou menos o filho por ter recebido um elogio ou uma malcriação. Esse amor é imutável, não sofre transformações e não depende de efeito externo. Ele é fonte de vida independente. Emana de forma autônoma e trancede a vida. Apesar de continuar me ensinando a Val hoje não é mais minha professora, mas nunca deixou de ser minha grande incentivadora. O dia-a-dia é prova disso. Sou extremamente privilegiado por tê-la em minha vida. Muito obrigado, meu amor.

DEDICATÓRIA

Dedico à minha família que amo tanto. Aos meus pais e a minha esposa. Ao meu amado filho Gustavo que nos enche de alegria e esperança. Nada nessa vida faz sentido se for construído sob uma ótica singular.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

No livro “Vida e Carreira – Um Equilíbrio Possível” dos autores Mario Sergio Cortella e Pedro Mandelli, o professor Cortella começa o livro, acredito eu, de maneira brilhante. Ele diz que a ideia de separação entre a vida pessoal e a vida profissional é um equívoco. Ainda, no dia-a-dia, não é incomum ouvirmos pessoas dizerem que a vida profissional está atrapalhando a vida pessoal. Sem dúvida, nossas vidas possuem um leque de facetas onde em cada uma delas temos que nos dedicar ao trabalho, à família, à saúde, aos amigos e etc. No entanto, é importante entender que não temos várias vidas, o que temos é uma única vida com diversos afazeres.

Resgato a ideia desse livro na humilde tentativa de homenagear uma grande pessoa que conheci, que independente de estar ou não exercendo o ofício da profissão, ou em acontecimentos extra-universidade onde gosta de falar sobre música e futebol, o professor Ricardo de Albuquerque é sempre o mesmo. Eu o conheci no dia 01 de julho de 2011, precisamente às 14 horas, dia este que o professor fez parte da banca examinadora da minha defesa de mestrado. Lembro claramente do meu pai preocupado por mim dizendo: Gu, fica tranquilo, conversei rapidamente com o professor Ricardo e logo de início já percebi que ele é “gente boa”. A mesma primeira impressão eu tive quando o conheci.

Com o passar do tempo muita coisa mudou, muita água passou por de baixo da ponte, e mesmo assim o professor Ricardo continua passando a mesma impressão. Enfim, na verdade não é mais uma impressão, e sim a sólida e agradável certeza de trabalhar ao lado de uma maravilhosa pessoa. Nesse pequeno trecho gostaria que tivesse a certeza da sincera emoção que inunda meu coração em agradecê-lo por confiar em mim num momento crucial da minha vida, que foi a época em que decidimos trilhar juntos a jornada do doutorado.

Ao professor Ricardo, nosso mestre, minha profunda gratidão e sincero agradecimento. Obrigado pelo apoio que sempre nos dá. Obrigado pela força fundamental quando, nós alunos, sozinhos, não conseguimos viabilizar determinada situação. Obrigado por nos educar. Muitíssimo obrigado por nos valorizar! Obrigado por contribuir com nossa felicidade, seja no trabalho, seja na vida ou em qualquer lugar...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por ter me concedido uma família que me criou com muito amor e dedicação, concedendo todas as condições que me possibilitaram cursar um Programa de Pós-graduação em tão renomada instituição.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo pelo apoio financeiro ao projeto (Processo 2012/08536-4) e pela concessão da bolsa de estudos (Processo 2012/11370-0), que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao querido professor Ricardo de Albuquerque, um educador que uni sabedoria e sucesso à uma simplicidade divina. Meu grande orientador e amigo. Autor de um caráter autêntico e admirável, com características belíssimas, as quais me esforcarei para levar como exemplo por toda vida.

À Karen de Souza Andrade, bolsista de Iniciação Científica da FAPESP (Processo 2013/03608-0), que participou efetivamente das tarefas deste trabalho com muita responsabilidade e educação. Foi uma aluna muito preocupada com os afazeres e também muito dedicada. Sou extremamente grato.

À Amanda Ramos dos Santos, por todo esforço e cuidado durante seu estágio, que foi fundamental na execução dos experimentos. Obrigado pelo companheirismo e pelo prontidão em auxiliar mesmo durante os finais de semana, quando foi preciso preparar as batidas de ração.

À Samara Rita de Lucca Maganha, bolsista de Treinamento Técnico FAPESP (Processo 2013/13960-2), pelo auxílio nas análises laboratoriais deste trabalho.

Ao grupo de graduandos e pós-graduandos da Avicultura FMVZ – USP. Muito obrigado à todos pelo exemplar trabalho em equipe: Maria Fernanda de Castro Burbarelli, Carlos Eduardo Bellinghausen Merseguel, Ágatha Cristina de Pinho Carão, Pedro de Assunção Pimenta Ribeiro, Karen de Souza Andrade, Amanda Ramos dos Santos, Léa Furlan D'Abreu, Marina Colucci Izeppi, Graziani Ferrer Corrêa, Paloma Yuri De Araujo, Bruno Rosa Viana, Karoline Deliberali Lelis e Thaiane Coelho Kasmanas.

Aos funcionários do setor de Avicultura da FMVZ – USP pela imprescindível ajuda. Obrigado China, Luciana e Cláudio da Silva.

Ao Evanildo Moreira da Silva, carinhosamente apelidado por Edinho, que é o “braço direito” no aviário da FMVZ – USP. Funcionário dedicado e competente que me auxiliou muito nos experimentos. Muito obrigado por toda ajuda, pelas conversas, pelos auxílios

técnicos, pela companhia, pelo amparo e principalmente pelas boas risadas. Agradeço imensamente.

Ao professor Ricardo Luiz Moro de Souza que disponibilizou toda ajuda necessária para a realização das análises microbiológicas. Muito obrigado pela concessão do laboratório e pelas orientações.

Ao professor Messias Alves da Trindade Neto, pelas orientações e auxílio nas análises laboratoriais. Obrigado pelo apoio que sempre concedeu. Obrigado pela parceria nos trabalhos e pela amizade.

Ao professor Paulo Henrique Mazza Rodrigues, pela importantíssima contribuição no avanço dos meus conhecimentos sobre planejamento e análise de experimentos.

À professora Cristiane Soares da Silva Araújo, pela extrema educação, cordialidade e respeito com minha pessoa. Obrigado pela confiança e pela troca de informações.

Ao professor Lúcio Francelino de Araújo, pela oportunidade de estágio docência na disciplina de Nutrição Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

Ao querido professor Marcelo de Cerqueira César, pelos ensinamentos e pela oportunidade de estágio docência na disciplina de Química da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

Ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

À toda equipe do Programa de Pós-graduação, em especial ao Sr. João Paulo Barros, a Sr^a. Alessandra de Cassia Terassi da Silva e a Sr^a. Fábiana Silene Iaderoza.

Aos funcionários da fábrica de rações da FMVZ – USP pelo auxílio e serviços prestados.

Ao meus amigos Julio Cesar Dadalt e Vitor Augusto dos Santos Garcia. Obrigado pelos momentos sem igual e pela felicidade que compartilhamos. Obrigado pelo apoio e recíproca nos momentos necessários.

Aos meus companheiros de república Claiton André Zotti, Gerson Antônio de Oliveira Júnior e Julio Cesar Machado Cravo. Obrigado pelo acolhimento, pela confiança e sobre tudo pela consideração e amizade que demonstraram. Muito obrigado!

Aos meus sucessores na república e grandes companheiros Gustavo Lineu Sartorello e Milton Maturana Filho. Muito obrigado pelo companheirismo e amizade que demonstraram. Meus sinceros agradecimentos.

À todos que fizeram parte dessa fase tão importante da minha vida e que nesse momento de emoção me falha a memória, meus sinceros agradecimentos!

“Não saber é o início da aprendizagem”

Rubem Alves

*“Não existe mérito em ser uma pedra, uma árvore ou um anjo.
Há mérito em ser um homem. Todos os outros seres são o que são,
já o homem torna-se o que é. Deve conquistar sua própria essência.”*

Theodoro Ferreira Polycarpo

RESUMO

POLYCARPO, G. V. **Dietas para frangos de corte contendo diferentes fontes lipídicas suplementadas ou não com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos.** [Diets for broiler chickens containing different lipid sources supplemented with or without lysophospholipids and organic acids]. 2015. 128 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

Os óleos e as gorduras, assim denominados em função de sua origem, são ingredientes internacionalmente indispensáveis na formulação de rações para que haja sucesso na produção de frangos de corte. Os lipídios advindos da dieta são grandes fornecedores de energia e de ácidos graxos essenciais ao metabolismo. O aproveitamento nutricional depende da digestibilidade, que, por sua vez, é influenciada pela composição química das moléculas lipídicas. Características ligadas ao comprimento da cadeia carbônica, presença ou não de duplas ligações, configuração das ligações (*cis* ou *trans*), presença de ácidos graxos na forma de triglicerídeo ou livre e posição do ácido graxo na molécula de glicerol são fatores que alteram não só a digestibilidade dos lipídios, mas também de compostos lipossolúveis. No entanto, em ensaios biológicos é preciso abordar uma ótica multifacetada, considerando, dentro dos limites técnicos da experimentação animal, as diversas interações que se apresentam. Os fatores fisiológicos da ave, principalmente aqueles ligados à digestão, são de extrema importância na condução de estudos de nutrição. Existe uma infinidade de interações físico-químicas durante o processo digestivo, no qual a microbiota intestinal exerce importantes funções. A modulação dos microrganismos presentes no trato gastrintestinal do frango tem influência direta e indireta no aproveitamento da dieta, com mérito em destaque dobrado, especialmente diante dos desafios enfrentados após a União Europeia vetar o uso de antibióticos em rações para animais. Ao longo dos anos, foram realizadas pesquisas que demonstraram o efeito negativo da proliferação indesejada de microrganismos sobre a digestão dos lipídios, afetando principalmente fontes lipídicas com grandes quantidades de ácidos graxos saturados, que são mais susceptíveis às condições inadequadas da digestão. Esse efeito ocorre pela ação da colilaurina hidrolase bacteriana, que causa desconjugação dos sais biliares endógenos das aves, prejudicando a emulsificação dos lipídios e a consequente formação de micelas. Portanto, este trabalho tem o objetivo de avaliar dietas contendo óleo de soja ou sebo bovino suplementadas com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos, explorando as possíveis interações e benefícios que podem haver na associação desses dois aditivos.

Palavras-chave: Acidificantes. Ácidos graxos. Lisofosfatidilcolina. Óleo de soja. Sebo bovino.

ABSTRACT

POLYCARPO, G. V. **Diets for broiler chickens containing different lipid sources supplemented with or without lysophospholipids and organic acids.** [Dietas para frangos de corte contendo diferentes fontes lipídicas suplementadas ou não com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos]. 2015. 128 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

Oils and fats, so named because of their origin, are internationally indispensable ingredients in feed formulation for success in broilers production. The lipids coming from the diet are major suppliers of energy and essential fatty acids for metabolism. The nutrient utilization is dependent on digestibility, which, in turn, is influenced by the chemical composition of the lipid molecules. Characteristics related to the length of the carbon chain, presence or not of double bonds, links configuration (*cis* or *trans*), presence of fatty acids in the form of triglycerides or free fatty acids and the position of fatty acids in the glycerol molecule are factors that alter not only the digestibility of lipids, but also fat-soluble compounds. However, in biological assays, a multifaceted vision approach is required, considering, within the technical limits of animal experimentation, the various existing interactions. The physiological factors of the bird, especially those related to digestion, are extremely important in the conduction of nutrition studies. There is an infinity of physical and chemical interactions during the digestive process, in which the intestinal microbiota plays important roles. Modulation of microorganisms in the gastrointestinal tract of the chicken has direct and indirect influence on the diet utilization, with merit in featured folded, especially considering the challenges faced after the European Union prohibit the use of antibiotics in animal feeds. Over the years, researches have shown the negative effect of undesired proliferation of microorganisms on the lipid digestion, mainly affecting lipid sources with large amounts of saturated fatty acids, which are more susceptible to poor digestion conditions. Such effect occurs by the bacterial cholytaurine hydrolase activity, causing deconjugation of endogenous bile salts of birds, damaging the emulsification of lipids and the consequent micelles formation. Therefore, this study aims to evaluate diets containing soybean oil or beef tallow supplemented with lysophospholipids and organic acids, exploring the possible interactions and benefits that can occur in the combination of these two additives.

Keywords: Acidifiers. Beef tallow. Fatty acids. Lysophosphatidylcholine. Soybean oil.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios no coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo	53
Gráfico 2 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios na conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 21 dias de idade.....	54
Gráfico 3 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de ácidos orgânicos na conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 21 dias de idade.....	54
Gráfico 4 -	Interação tripla sobre a concentração de ácido palmítico (C16:0) na carcaça de frangos de corte.....	60
Gráfico 5 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios sobre a concentração de ácido linoleico (C18:2 <i>cis</i> -9, 12) na carcaça de frangos de corte.....	60
Gráfico 6 -	Interação dos lisofosfolípídios com a inclusão de ácidos orgânicos sobre a concentração de ácido linoleico (C18:2 <i>cis</i> -9, 12) na carcaça de frangos de corte	60
Gráfico 7 -	Interação tripla sobre a concentração de ácido gama-linolênico (C18:3 <i>cis</i> -6, 9, 12) na carcaça de frangos de corte	60
Gráfico 8 -	Interação tripla sobre a concentração de ácido alfa-linolênico (C18:3 <i>cis</i> -9, 12, 15) na carcaça de frangos de corte	60
Gráfico 9 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios sobre a concentração de ácidos graxos da família ômega 6 na carcaça de frangos de corte	60
Gráfico 10 -	Interação dos lisofosfolípídios com a inclusão de ácidos orgânicos sobre a concentração de ácidos graxos da família ômega 6 na carcaça de frangos de corte	61
Gráfico 11 -	Interação tripla sobre a concentração de ácidos graxos da família ômega 3 na carcaça de frangos de corte	61
Gráfico 12 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios no peso relativo do fígado (%) de frangos de corte aos 14 dias de idade.....	81
Gráfico 13 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios na contagem de cocos gram positivos (UFC/g)	82
Gráfico 14 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios na matéria seca (MS, %) das carcaças de frangos de corte aos 42 dias de idade.....	104
Gráfico 15 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios no ganho de matéria seca (MS, g) das carcaças de frangos de corte aos 42 dias de idade.....	104
Gráfico 16 -	Interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos sobre a concentração de ácido eicosadienóico (C20:2 <i>cis</i> -11, 14) na carcaça de frangos de corte.....	104
Gráfico 17 -	Interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos sobre a concentração de ácido araquidônico (C20:4 <i>cis</i> -5, 8, 11, 14) na carcaça de frangos de corte.....	104
Gráfico 18 -	Interação das fontes lipídicas com a inclusão de ácidos orgânicos no peso relativo do duodeno (%) de frangos de corte aos 14 dias de idade	119
Gráfico 19 -	Interação tripla sobre o peso relativo do intestino grosso (%) de frangos de corte aos 14 dias de idade.....	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição e valores calculados das dietas experimentais a base de milho e arelo de soja	47
Tabela 2 -	Perfil de ácidos graxos das dietas a base de milho e farelo de soja	48
Tabela 3 -	Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia bruta em frangos de corte alimentados com dietas iniciais a base de milho.....	52
Tabela 4 -	Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho no período de 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade.....	54
Tabela 5 -	Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho no período de 1 a 42 dias de idade	55
Tabela 6 -	Composição da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de milho	56
Tabela 7 -	Perfil de ácidos graxos de cadeia média e longa da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de milho.....	58
Tabela 8 -	Perfil de ácidos graxos de cadeia muito longa, somatória e relações de ácidos graxos da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de milho	59
Tabela 9 -	Órgãos do sistema digestório aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho.....	80
Tabela 10 -	pH e microbiologia jejunal aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho	81
Tabela 11 -	Concentração hepática de vitaminas lipossolúveis A e E aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho.....	82
Tabela 12 -	Composição e valores calculados das dietas experimentais a base de trigo e farelo de soja	93
Tabela 13 -	Perfil de ácidos graxos das dietas a base de trigo e farelo de soja	94
Tabela 14 -	Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia bruta em frangos de corte alimentados com dietas iniciais a base de trigo.....	98
Tabela 15 -	Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo no período de 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade.....	99
Tabela 16 -	Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo no período de 1 a 42 dias de idade	99
Tabela 17 -	Composição da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de milho	101
Tabela 18 -	Perfil de ácidos graxos de cadeia média e longa da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de trigo	102
Tabela 19 -	Perfil de ácidos graxos de cadeia muito longa, somatória e relações de ácidos graxos da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de trigo	103
Tabela 20 -	Órgãos do sistema digestório aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo	118
Tabela 21 -	pH e microbiologia jejunal aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo	119
Tabela 22 -	Concentração hepática de vitaminas lipossolúveis A e E aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo	120

SUMÁRIO

	CAPÍTULO I.....	19
1	INTRODUÇÃO	20
2	HIPÓTESE	22
3	OBJETIVO	23
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	24
4.1	Lipídios.....	24
4.2	Emulsificantes	25
4.3	Lisofosfolipídios.....	28
4.4	Ácidos orgânicos	31
4.5	Relações entre a composição da dieta e a microbiota intestinal no aproveitamento de lipídios	34
	REFERÊNCIAS	36
	CAPÍTULO II - Efeitos da inclusão de fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos em dietas a base de milho para frangos de corte: 1. Digestibilidade de nutrientes, desempenho e composição e teor de ácidos graxos da carcaça	43
5	INTRODUÇÃO	44
6	MATERIAL E MÉTODOS	46
7	RESULTADOS	52
8	DISCUSSÃO	62
9	CONCLUSÃO	67
	REFERÊNCIAS	68
	CAPÍTULO III - Efeitos da inclusão de fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos em dietas a base de milho para frangos de corte: 2. Alometria de órgãos do sistema digestório, microbiota jejunal e concentração hepática de vitaminas lipossolúveis A e E	73
10	INTRODUÇÃO	74
11	MATERIAL E MÉTODOS	76
12	RESULTADOS	79
13	DISCUSSÃO	83
14	CONCLUSÃO	87
	REFERÊNCIAS	88
	CAPÍTULO IV - Efeitos da inclusão de fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos sobre a digestibilidade de nutrientes, desempenho e composição e teor de ácidos graxos da carcaça de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo	90
15	INTRODUÇÃO	91
16	MATERIAL E MÉTODOS	92
17	RESULTADOS	98
18	DISCUSSÃO	105
19	CONCLUSÃO	108
	REFERÊNCIAS	109
	CAPÍTULO V - Efeitos da inclusão de fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos sobre a alometria de órgãos do sistema digestórios, microbiologia jejunal e concentração hepática de vitaminas lipossolúveis A e E em frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo.....	112
20	INTRODUÇÃO	113
21	MATERIAL E MÉTODOS	114
22	RESULTADOS	117
23	DISCUSSÃO	121
24	CONCLUSÃO	123
	REFERÊNCIAS	124
	CAPÍTULO VI	126
25	IMPLICAÇÕES	127

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira, nos últimos anos, vem apresentando intensos avanços, advindos, dentre outros fatores, da qualidade e da produtividade avícola, que é determinada pelos cinco pilares básicos da zootecnia: melhoramento genético, manejo, ambiência das instalações, sanidade e nutrição. Na produção de frangos de corte a nutrição ocupa lugar de destaque, já que a alimentação é o fator que mais onera os custos de criação, representando em torno de 60 a 70% do capital despendido.

A energia da dieta está entre os pontos de maior relevância nas formulações de rações para frangos, representando a somatória de todos os nutrientes, influenciando o desempenho e as características de carcaça (LEANDRO et al., 2003). Na prática, é imprescindível que o nutricionista utilize óleo vegetal e/ou gordura animal para atingir o nível adequado de energia nas dietas de frangos, principalmente nas fases finais de criação, onde a demanda é ainda maior.

Os óleos e as gorduras não somente colaboram com a energia da dieta mas representam uma gama de ingredientes que contribuem com consideráveis parcelas de nutrientes muito importantes para um equilíbrio nutricional adequado, fornecendo os substratos necessários para o bom funcionamento do organismo. Alguns nutrientes essenciais, como o próprio nome sugere, devem advir da dieta por não serem bioquimicamente produzidos no metabolismo. Entre eles, os ácidos graxos linoleico (*n*-6) e α -linolênico (*n*-3) são considerados essenciais para as aves, obtidos exclusivamente por meio dos lipídios contidos na ração.

O melhor aproveitamento dos nutrientes dietéticos é preocupação constante de nutricionistas e formuladores da área avícola. A emergida discussão sobre aditivos pró-nutricionais nas últimas três décadas alavancou esse cuidado, que se intensificou e virou realidade. Grande comprovação dessa afirmação é o uso de enzimas exógenas, atualmente praticado em larga escala pela indústria. Aliado a isso, a crescente preocupação por alimentos seguros e a proibição do uso de antibióticos em rações, alavancada pela União Europeia, aqueceram as pesquisas que investigam aditivos naturais, não unicamente para aumentar a digestão de nutrientes, mas também para controlar problemas entéricos relacionados aos microrganismos.

Durante o estudo da eficiência alimentar é preciso considerar a infinidade de interações físico-químicas envolvidas no processo digestivo. Por isso, para avançarmos nesse

assunto, é preciso conhecer e levar em consideração a microbiota intestinal, devido a grande influencia que os microrganismos exercem sobre a digestão dos constituintes da ração, admitindo que o inverso se aplica por serem pontos correlatos.

2 HIPÓTESE

O ponto de fusão, definido pela composição dos óleos e das gorduras, é fator determinante na emulsificação, que por sua vez caracteriza-se por ser uma etapa fundamental na digestão dos lipídios. Logo, é possível que aditivos emulsificantes atuem com relevância distinta em função da qualidade do lipídio adicionado à dieta.

A diferença no aproveitamento de nutrientes, mais especificamente de lipídios, pode impactar a microbiota intestinal (DÄNICKE et al., 1999; KNARREBORG et al., 2002a), que é capaz de desconjugar os sais biliares (KNARREBORG et al., 2002b; MAISONNIER et al., 2003) e prejudicar os processos de emulsificação no intestino delgado. Tal relação levanta a especulação de haver benefícios na combinação de emulsificantes e antimicrobianos, onde um acrescentaria na ação do outro.

No caso específico dos lisofosfolipídios e dos ácidos orgânicos, que são, respectivamente, substâncias emulsificantes e antimicrobianas, poderia ocorrer com suas associações:

1- Efeito conjunto: é sabido que os lisofosfolipídios possuem ação antimicrobiana (COONROD; YONEDA, 1983), somando na ação dos ácidos orgânicos (RICKE, 2003), preservando assim os sais biliares endógenos e garantindo uma boa emulsificação. Aumentando a eficiência da digestão, seja pela preservação dos sais biliares endógenos ou pela melhor emulsificação e formação de micelas causada pelos lisofosfolipídios, restaria menos substratos no lúmen intestinal para proliferação indesejada da microbiota.

2- Efeito complementar: os lisofosfolipídios poderiam provocar prejuízos à integridade da bactéria por meio de mudanças na membrana celular aumentando sua permeabilidade para íons (SILVA JÚNIOR, 2009), atuando por um mecanismo de ação similar ao dos ácidos orgânicos, que dissocia íons H^+ no citoplasma bacteriano causando desequilíbrio no gradiente de concentração (IMMERSEEL et al., 2006).

Portanto, é possível que a digestibilidade dos óleo e gorduras, que pode variar em função de sua origem e composição, possa apresentar interações com a inclusão isolada ou associada dos lisofosfolipídios e dos ácidos orgânicos. No mais, os mecanismos interligados dos aditivos supramencionados levantam a possibilidade de algum efeito somatório ou até mesmo sinérgico na associação de ambos, dependendo da fonte lipídica dietética.

3 OBJETIVO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar dietas para frangos de corte contendo diferentes fontes lipídicas suplementadas ou não com lisofosfolípidios e ácidos orgânicos.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Lipídios

O emprego de gorduras e óleos é largamente discutido, pois tais ingredientes apresentam diversas características de interesse. Segundo Junqueira et al. (2005), os óleos e gorduras são grandes fornecedores de energia prontamente disponível, sendo utilizadas para aumentar a densidade energética das rações, além de contribuir com o fornecimento de ácidos graxos essenciais. Adicionalmente, Duarte et al. (2010) mencionam outros benefícios resultantes da adição de lipídios na dieta, classificando-os como efeitos extra calóricos, que são, dentre eles, a melhora na digestão e absorção dos nutrientes e a redução do incremento calórico. Em estudo, Andreotti et al. (2004) demonstraram melhora nos índices de desempenho das aves em função de níveis crescentes de óleo de soja na dieta durante as fases de crescimento (21 a 42 dias) e final (43 a 56 dias).

No entanto, a presença e o nível de inclusão de óleo na dieta não podem ser o único fator a ser considerado, já que a qualidade da fonte lipídica a ser empregada é um ponto extremamente importante e que necessita devida atenção. A presença de ácidos graxos na forma de triglicerídeos ou na forma livre, bem como a estrutura química dos ácidos graxos são determinantes. A eficiência no processo de digestão dos lipídios depende da quantidade de ácidos graxos dietéticos que são fornecidos na forma de triglicerídeos, pois, se não houver a presença da molécula de glicerol juntamente com o ácido graxo, a absorção ficará prejudicada. Isso ocorre porque moléculas de monoglicerídeos são essenciais para a incorporação de ácidos graxos insolúveis no complexo micelar (RABER et al., 2008, 2009).

Outro fator imprescindível à eficiência do processo de digestão e absorção de lipídios em aves refere-se ao grau de saturação e ao tamanho da cadeia carbônica dos ácidos graxos (LEESON; SUMMERS, 1976, 2001). Um trabalho clássico no tema demonstra que a posição do ácido graxo na molécula de triglicerídeo também influencia o aproveitamento de lipídios (RENNER; HILL, 1961). Ainda, é importante ressaltar a interação sinérgica existente entre ácidos graxos saturados e insaturados, refletindo no desempenho de frangos de corte (GAJOTTO et al., 2000).

Em paralelo, a busca pelo aumento da eficiência alimentar, frente à pressão imposta pela competitividade global, demanda pesquisas para investigar e elucidar o emprego de

novas tecnologias. Alguns aditivos que antes eram inovadores são atualmente considerados consolidados, sendo largamente empregados nas dietas como micro-ingredientes indispensáveis para atingir índices zootécnicos satisfatórios e/ou para reduzir o custo das formulações.

4.2 Emulsificantes

O aumento da eficiência alimentar proporcionada pela adição de óleos e gorduras pode ser aprimorada explorando algumas lacunas que existem na digestão, principalmente em aves jovens que possuem certa limitação fisiológica na absorção de nutrientes. A ave possui menor capacidade de retenção de lipídios dietéticos na primeira semana de vida, principalmente de gordura saturadas, aumentando o aproveitamento com o passar da idade (SELL; KROGDAHL; HANYU, 1986). Sakomura et al. (2004) demonstraram em frangos de corte o aumento significativo que a atividade de lipase sofre com o passar do tempo nas primeiras semanas de vida, associando tais resultados ao crescimento alométrico do pâncreas que ocorre no mesmo período. Nesse contexto, o uso de emulsificantes sintéticos pode representar uma excelente estratégia nutricional que, no entanto, é uma prática relativamente recente e pouco praticada em relação a outros aditivos alimentares.

Apesar dos óleos e gorduras serem substâncias insolúveis em água, essas são digeridas e/ou transportadas em meio aquoso no lúmen intestinal, o que causa um desafio biofísico rigoroso e gera um paradoxo químico, pois, compostos lipossolúveis que não possuem afinidade com a água devem ser digeridos em meio aquoso (SILVA JÚNIOR, 2009). Para que esse fenômeno ocorra, deve haver a emulsão dos lipídios no trato gastrintestinal (TGI), que é provocada naturalmente pela ação dos sais biliares produzidos no fígado. Nesse âmbito, pode-se dizer que a emulsão dos lipídios com consequente formação de micelas é uma etapa fundamental no procedimento digestivo. Alguns estudos mostram que a suplementação exógena com sais biliares aprimora a emulsão e a digestão de gorduras em aves (POLIN et al., 1980; KUSSAIBATI; GUILLAUME; LECLERCQ, 1982).

A lecitina de soja é composta basicamente de fosfolipídios com característica emulsificante, com diversas aplicabilidades, a qual tem recebido atenção por parte de nutricionistas e pesquisadores, empregando-a como um aditivo alimentar com potencial para incrementar a energia da dieta. Entretanto, os resultados encontrados por alguns

pesquisadores mostram-se inconsistentes. Azman e Ciftci (2004) concluíram que a substituição gradual do óleo de soja e do sebo bovino por lecitina não induz nenhum ganho no desempenho zootécnico de frangos de corte. Noutra pesquisa em que o óleo de soja foi gradualmente substituído por lecitina, os autores ratificam piores resultados de desempenho e de utilização de nutrientes quando este aditivo foi incluído em maiores quantidades (HUANG; YANG; WANG, 2007).

Os resultados com lecitina supramencionados podem ser explicados em função de algumas características químicas inerentes à molécula de lecitina de soja. Essa substância possui um balanço hidrofílico-lipofílico (BHL) em torno de 4, que é um número obtido por meio da relação existente entre os grupos hidrofílicos e lipofílicos da molécula. Segundo Bobbio e Bobbio (1995), moléculas com BHL inferior a 9 possuem caráter lipofílico, sendo excelentes emulsificantes de água em óleo. Por isso a lecitina é tão aplicada em processamentos de alimentos, em que deseja-se emulsificar água em substância gordurosa. Já no TGI das aves a situação é inversa, pois pretende-se emulsificar gordura em meio aquoso.

Os sais biliares, produzidos no organismo das aves, responsáveis pela emulsão dos lipídios no TGI, são compostos, entre outras substâncias, por fosfolipídios, os quais sofrem ação de uma enzima chamada fosfolipase A₂. Essa enzima catalisa a hidrólise do ácido graxo na posição dois da molécula de glicerol, resultando numa mudança drástica na característica da molécula. Após os fosfolipídios serem clivados, tem-se a liberação de ácido graxos e lisofosfolipídios (DUBOUIX et al., 2003), que apresentam um BHL muito maior em relação ao fosfolipídio, tornando-se então excelentes emulsificantes de lipídio em água. Tal processo pode explicar os bons resultados encontrados por Huang, Yang e Wang (2007) ao misturar óleo de soja e lecitina na proporção de 75/25, e a piora nos resultados quando aumentou-se a quantidade de lecitina na mistura. A hipótese é que os bons resultados possam ter sido decorrentes de uma ação suficiente da fosfolipase A₂ sobre os fosfolipídios da lecitina na proporção de 75/25, mas quando essa relação aumentou, é possível que não houve uma produção endógena suficiente dessa enzima para transformar os fosfolipídios em lisofosfolipídios, prejudicando a digestão.

A lisofosfatidilcolina (LPC), produzida pela ação da fosfolipase A₂ na fosfatidilcolina (PC) proveniente da bile e/ou dos alimentos, é um lisofosfolipídio biosurfactante utilizado como aditivo em rações animais, o qual possui a capacidade de alterar as propriedades superficiais dos lipídios e de formar micelas em baixíssimas concentrações, além de também atuarem sobre a permeabilidade das membranas. Em resumo, a LPC é um componente

fundamental para o processo de hidrólise dos lipídios e posterior absorção de nutrientes pelo epitélio intestinal.

Segundo Silva Júnior (2009), além da ação direta dos lisofosfolipídios sobre a absorção de gorduras e outros nutrientes, existe outro possível mecanismo de atuação destes compostos que pode estar relacionado com um efeito antibacteriano, sendo capazes de desestabilizar as membranas celulares das bactérias aumentando a permeabilidade para íons. Desse modo, os lisofosfolipídios são aptos em alterar o equilíbrio iônico entre o interior e o exterior das células, atuando pelo mesmo mecanismo de ação antibacteriana de diversos compostos, como dos antibióticos.

Também é importante evidenciar o emprego de mais de um aditivo com ações que se complementam e, dessa forma, beneficiar a saúde intestinal incidindo diretamente na nutrição e na saúde das aves. A associação de aditivos que apresentam ação conjunta tem despertado a atenção de muitos profissionais da área, principalmente pela possibilidade de melhores resultados, sendo um tema bastante discutido em reuniões e congressos. Os ácidos orgânicos são adicionados à dieta para prevenir e minimizar infecções por bactérias, pois estes alteram o pH, passando a ter ação antibacteriana, particularmente contra bactérias Gram negativas (BASSAN et al., 2008).

A interação dos ácidos orgânicos com a biota intestinal pode auxiliar também na digestibilidade dos lipídios, já que a microbiota no intestino tem a capacidade de desconjugar e destruir os sais biliares (DÄNICKE et al., 1997a; MATHLOUTHI et al., 2002), por atividade da colilaurina hidrolase bacteriana (FEIGHNER; DASHKEVICZ, 1987, 1988), provocando forte queda na digestibilidade de gorduras (MAISONNIER et al., 2003), principalmente de gorduras saturadas (DÄNICKE et al., 1997b). Menos nutrientes disponíveis para as bactérias também favorecem o equilíbrio eubiótico intestinal, resultando em menos sais biliares perdidos, gerando um sistema retroativo benéfico que se sustenta (SILVA JÚNIOR, 2009).

Portanto, a ação conjunta e potencialmente sinérgica de lisofosfolipídios e ácidos orgânicos pode afetar de forma positiva o equilíbrio da microbiota bacteriana, melhorando o aproveitamento de lipídios e também de outros nutrientes provenientes da dieta.

4.3 Lisofosfolipídios

Os óleos e as gorduras são uma grande realidade dentro da avicultura moderna, que servem de subsídio na busca de artifícios para proporcionar uma nutrição adequada e melhor produzir proteína animal. Os benefícios dos lipídios nas rações para frangos de corte são muito conhecidos como já relatado por muitos pesquisadores (PUCCI et al., 2003; ANDREOTTI et al., 2004; LARA et al., 2005; DUARTE et al., 2010).

O bom aproveitamento dos lipídios no intestino depende de uma série de etapas da digestão que envolve sucos digestivos que contêm enzimas para hidrolisar tais macromoléculas. A PC, presente na bile, atua nesse processo de emulsão de gorduras e formação de micelas. A mistura de PC, sais biliares e lipossolúveis do alimento é alvo da atividade da enzima fosfolipase A₂ secretada pelo pâncreas, formando a LPC (SILVA JÚNIOR, 2009). Conforme brevemente citado anteriormente, a enzima fosfolipase A₂ recebe esse nome porque catalisa a hidrólise do ácido graxo ligado ao carbono dois do glicerol dos fosfolipídios, liberando ácidos graxos e lisofosfolipídios (DENNIS, 1994). Essa reação pode ocorrer sobre a PC proveniente do fígado e/ou sobre a lecitina (rica em fosfolipídios como a PC) contida na dieta. Ou seja, a produção de LPC (que é um lisofosfolipídio) advém de duas principais fontes: de lecitina encontrada na dieta e da PC secretada pelo fígado (SILVA JÚNIOR, 2009).

A transformação em LPC exerce uma implicação enorme na característica da molécula, que passa a ter um lado hidrofílico muito mais significativo que a PC originária. Portanto, a LPC possui propriedades hidrofílicas desenvolvidas quando comparada à PC. Homan e Hamelshle (1998) demonstram a importância de transformar PC em LPC na absorção de substâncias lipossolúveis no intestino, como o colesterol. Sugawara et al. (2001) encontraram resultados interessantes investigando a absorção de carotenoides que são solubilizados na formação micelar. Esses autores relataram que a absorção de β -carotenos e de luteína foi muito suprimida dependendo da dose de PC presente no complexo micelar, ao passo que a LPC incrementou marcadamente a captação de β -carotenos e de luteína por células do epitélio intestinal.

Ainda estudando a absorção de β -caroteno e de luteína, que são os carotenoides mais encontrados no plasma humano, foi mostrado que a PC micelar restringe a difusão de carotenoides da micela para as células. Porém, quando foi examinado o efeito da PC hidrolisada pela fosfolipase A₂ pancreática, foi observada uma reversão nos resultados

(SUGAWARA et al., 2001). É notório que a suplementação enzimática com a fosfolipase A₂ traria benefícios na digestibilidade de lipídios e de componentes lipossolúveis no lúmen intestinal, no entanto, a inclusão direta de LPC pode acarretar benefícios relativos à termo-resistência da molécula, evitando problemas de estabilidade e viabilizando, dessa maneira, sua incorporação em dietas peletizadas e extrusadas. Aliás, por se tratar de uma gordura e não de uma enzima, o produto final é imune a quaisquer alterações de pH, em eventuais associações com ácidos orgânicos, por exemplo. Simplificando o que foi dito, a suplementação de dietas com LPC pode ser comparada à uma suplementação com enzima exógena, só que já na forma do seu resultado final.

A LPC promove emulsões mais eficientes com tamanho de gotículas menores, aumentando a superfície de contato das enzimas, havendo portanto, um coerente incremento nos métodos digestivos. Essa característica está atrelada até mesmo a micelas menores que se movem de forma mais rápida e fácil sobre barreiras naturais. A concentração micelar crítica também é menor em relação à lecitina, o que significa que é necessário menos LPC do que PC para iniciar a ocorrência de formação de micela. A concentração micelar crítica da LPC é de 0,02 – 0,2 mM/L, a qual é 20 – 200 vezes mais eficiente que a bile (4mM/L) e a lecitina (0,3 – 2 mM/L) (LANGMUIR, 2002¹ apud ZHANG et al., 2011, p. 178).

Em trabalhos com frangos de corte, Raju et al. (2011) relatam que a lisolecitina (lisofosfolipídios provenientes da lecitina) derivada do arroz pode ser usada em dietas como uma forma de suplementação de energia. Zhang et al. (2011) mencionam que a LPC aumenta o ganho de peso de frangos de corte na fase inicial em função da maior digestibilidade de ácidos graxos. Em função de sua atuação na digestibilidade de gorduras, os lisofosfolipídios podem ser usados na dieta como um aditivo para melhorar o desempenho da ave, sendo adicionado na forma *on top*, ou seja, sem considerar o valor da matriz nutricional do produto. Uma segunda opção seria incluí-lo nas formulações com o intuito de reduzir o custo da dieta sem perdas no desempenho das aves, considerando a valorização da matriz nutricional proveniente dos lisofosfolipídios.

Existem evidências utilizando intestino de ratos que a LPC aumenta a permeabilidade da membrana para macromoléculas (TAGESSON et al., 1985; BOLIN et al., 1986), o que sugere que essa substância pode também atuar no aproveitamento de outros nutrientes da dieta além das gorduras, como explicitado por Silva Júnior (2009). Karlqvist et al. (1986) citam que a LPC aumentou a permeabilidade gástrica, no entanto, observou-se que as

¹ Langmuir, L.T. 2002. Lecithin. In: Arthur, T. Hubbard (Ed.). **Encyclopedia of Surface and Colloid Science**. New York, USA: Marcel Dekker Inc., 2002. p. 2997-3006.

estruturas dos microvilos foram danificadas. Essa ação sobre a permeabilidade da membrana precisa ser melhor estudada na avicultura, principalmente para fins de produção, elucidando seus efeitos sobre o desenvolvimento e a descamação da mucosa no TGI, como por exemplo sobre as vilosidades intestinais, que estão fortemente relacionadas à eficiência alimentar. Kume e Gimbrone Jr (1994) concluíram que a LPC pode induzir a expressão de gene relacionado ao fator de crescimento em culturas de células epiteliais humanas.

Num cenário onde, atualmente, tem-se discutido muito sobre a proibição dos antibiótico melhoradores de desempenho, os lisofosfolipídios, como a LPC, podem representar uma possibilidade, dentre outras, para circuncisar o problema. Foi demonstrado por Coonrod e Yoneda (1983) que surfactantes como os lisofosfolipídios possuem atividade antibacteriana. Kabarowski et al. (2001) demonstram a ligação da LPC no desenvolvimento do sistema auto-imune. Mais tarde, Hong et al. (2010) concluíram que a LPC aumenta a atividade bactericida de neutrófilos, que é a primeira linha de defesa contra micróbios. Adicionalmente, a enzima fosfolipase A₂ foi intrinsecamente ligada à capacidade de causar o rompimento da integridade das bactérias, levando ao comprometimento da viabilidade bacteriana (DUBOUIX et al., 2003).

O mecanismo de ação antibacteriano dos lisofosfolipídios está ligado a habilidade dos mesmos em desestabilizar as membranas celulares das bactérias aumentando a permeabilidade para íons, destruindo o equilíbrio iônico entre o interior e o exterior da célula (SILVA JÚNIOR, 2009). Conforme demonstrado por uma sequencia de pesquisas realizadas por Dänicke et al. (1997a,b, 1999, 2000), a microbiota intestinal possui forte influência na digestibilidade de gorduras, principalmente de gordura saturada. Esse efeito é evidente pela ação direta de enzimas exógenas sobre os polissacarídeos não-amiláceos solúveis encontrados na dieta, que podem aumentar a viscosidade intestinal quando não hidrolisados, propiciando condições para o desenvolvimento de bactérias indesejáveis.

Mediante os efeitos antibacterianos dos lisofosfolipídios, pode-se dizer que esse aditivo atua também de maneira indireta na digestibilidade de gorduras, já que a flora bacteriana é capaz de desconjugar os sais biliares provenientes da bile. A desconjugação de sais biliares ocorre em função de enzimas bacterianas, como a colilaurina hidrolase bacteriana, que provoca queda no ganho de peso e na conversão das aves, já que os sais biliares conjugados auxiliam na digestão, emulsificação e absorção dos lipídios e dos compostos lipossolúveis no intestino delgado (FEIGHNER; DASHKEVICZ, 1987).

4.4 Ácidos orgânicos

Após o banimento de antibióticos das rações animais por parte da União Europeia, a indústria avícola vêm enfrentando diversos desafios com relação às enterites causadas pelo desequilíbrio da microbiota intestinal. Algumas dessas condições são descritas como: super crescimento bacteriano intestinal, má absorção e síndrome da passagem de alimentos (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMERSEEL, 2011). Esse impacto na produção de aves após a retirada dos antibióticos pode ser minimizado adotando aditivos com propriedades que apresentem efeitos similares aos dos antibióticos.

Os ácidos orgânicos possuem uma extensa história de utilização como aditivo para preservar alimentos e prevenir a deterioração, aumentando a vida útil de ingredientes perecíveis (RICKE, 2003). Também denominados de ácidos carboxílicos ou de doadores de prótons, os ácidos orgânicos são referidos na produção animal como ácidos de cadeia curta com propriedades antimicrobianas.

A inibição do crescimento microbiano pelos ácidos orgânicos é explicada pela habilidade desses ácidos em passar pela membrana, dissociando-se no interior celular acidificando o citoplasma (IMMERSEEL et al., 2006). A exportação excessiva de prótons por parte das bactérias para controlar o pH intracelular demanda consumo de adenosina trifosfato (ATP), o que resulta na depressão da energia celular (RICKE, 2003), retardando seu crescimento ou até mesmo podendo levar o microrganismo à morte. O poder de acidificação do meio por um ácido depende de seu pKa, que está diretamente ligado com sua capacidade de dissociar prótons.

Existe uma ampla gama de ácidos orgânicos disponíveis no mercado com propriedades físico-químicas diferentes. Os mesmos podem ser adicionados à água de bebida das aves ou diretamente nas rações. São comercializados na forma de sais de sódio, potássio e cálcio. A vantagem dos sais sobre os ácidos é que eles são geralmente inodoros e mais fáceis de manusear no processo de fabricação de alimentos para animais, devido a sua forma sólida e menos volátil. Eles também são menos corrosivos e podem ser mais solúveis em água, ou ainda na forma líquida (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMERSEEL, 2011).

A inibição de bactérias patogênicas que crescem em pH mais elevados e o favorecimento do crescimento de bactérias desejáveis privilegiadas pelo pH reduzido dos ácidos orgânicos acontece principalmente nos órgãos proximais do TGI, diminuindo sua concentração e potencial de acidificação na decida pelo intestino como resultado dos

processos de metabolização e absorção, sendo completamente removido da ingesta antes de atingir o divertículo de Meckel (BOLTON; DEWAR, 1964). Portanto, é importante mencionar que efeitos conferidos pelos ácidos orgânicos nos órgãos distais do trato gastrointestinal pode ser devido ao controle bacteriano patogênico nas partes superiores, apesar desse mecanismo compensatório ainda não apresentar comprovação científica (ADIL et al., 2010).

Existem algumas tecnologias que foram desenvolvidas para maximizar o efeito de ácidos orgânicos e beneficiar o intestino ao longo de toda sua extensão, ou pelo menos em grande parte dele. Os microencapsulados ou protegidos são moléculas revestidas por uma camada fina de algum polímero ou lipídio, com o objetivo de prevenir a dissociação dos ácidos logo nos primeiros órgãos do sistema digestório, afim de beneficiar os órgãos subsequentes, por meio de uma liberação controlada. No caso do microencapsulamento com revestimento lipídico, a matriz protegida será liberada somente no intestino delgado durante os processos de emulsão e hidrólise das gorduras.

As pesquisas que estudam os ácidos orgânicos demonstram a eficácia desse aditivo como uma possível alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho. No entanto, existem alguns pontos a serem considerados. Durante o planejamento das pesquisas é preciso saber que o estudo da saúde intestinal exige abordagens multifacetadas (CHOCT, 2009), devendo considerar pontos como a microbiologia e a característica dos ingredientes que compõem a dieta.

Desde a época em que se iniciaram as avaliações sobre antimicrobianos na alimentação animal, por volta da década de 50, foi reportada a importância da presença de desafio sanitário e/ou microbiano para haver avaliações adequadas (LILLIE; SIZEMORE; BIRD, 1953; COATES et al., 1963). Variações nos resultados de trabalhos desenvolvidos com ácidos orgânicos podem ser intrínsecas a fatores intervenientes, tais como: pH do trato digestivo, capacidade tampão dos ingredientes da dieta, condição higiênica do ambiente produtivo, heterogeneidade da microbiota intestinal e resistência inerente dos microrganismos (SALAZAR et al., 2008). Segundo Ribeiro, Flemming e Bacila (2008), a quantidade de acidificante a ser adicionada à ração depende do pH e da capacidade tamponante da dieta.

Adil et al. (2010) estudaram o efeito isolado de três ácidos com 2 e 3% de inclusão e concluíram que o ácido láctico e o ácido butírico, independente do nível, aumentaram o ganho de peso, a conversão alimentar e a altura dos vilos do duodeno e jejuno. Rezende et al. (2008) observaram efeitos lineares positivos no ganho de peso e na conversão alimentar de frangos que consumiram níveis crescentes de ácido acético. Avaliando o ácido cítrico, Chowdhury et

al. (2009) demonstraram melhora no desempenho corporal de frangos de corte, além de melhorar o estado imunológico contra patógenos entéricos e doenças infecciosas.

O incremento no desempenho de frangos de corte dieteticamente suplementados com ácidos orgânicos pode ser consequência de diversas causas. O ácido láctico administrado via água de bebida no período de pré abate pode controlar infecções por *Salmonella* e *Campylobacter*, reduzindo a incidência desses microrganismos (BYRD et al., 2001). Em células intestinais de humanos foi relatado que o ácido butírico aumenta a proliferação de células intestinais (DALMASSO et al., 2008) e em pequenas doses (2 mM) fortalece a barreira da mucosa intestinal (PENG et al., 2007).

Muitos dos ácidos orgânicos são disponibilizados na forma de *pool* para rações avícolas, ou seja, são ofertados mediante um produto que é composto por diversos ácidos. Essa combinação favorece os efeitos dos ácidos, que em associações e quantidades corretas podem aumentar o potencial de ação um do outro, ampliando o espectro de atividade. Assim, foi verificado melhora no ganho de peso de aves que consumiram os ácidos láctico, fórmico e acético fornecidos na dieta, no período de 1 a 35 dias (VIOLA et al., 2008).

Compilando as informações expostas até o momento, é plausível que a associação de lisofosfolipídios e de ácidos orgânicos em dietas para aves possa apresentar resultados benéficos, e até possivelmente sinérgicos. A ação unida desses dois aditivos pode apresentar efeitos que se completam. Reforçando a hipótese que antecedeu esta revisão, é possível que o efeito conjunto desses dois aditivos esteja ligado principalmente a dois fatores: 1- Ação antibacteriana combinada, sendo a ação dos ácidos orgânicos mais estudada e comprovada do que a dos lisofosfolipídios. 2- Melhora no aproveitamento de lipídios dietéticos causada pelos lisofosfolipídios resultaria em menos nutrientes disponíveis para as bactérias intestinais, que teriam menos substratos para se multiplicarem, favorecendo a atuação dos ácidos orgânicos no controle da microbiota intestinal, que, por sua vez, evitaria a perda de sais biliares pela atividade bacteriana indesejada, beneficiando a digestibilidade de gorduras, gerando um círculo virtuoso que se retroalimenta. Uma segunda hipótese seria um complemento no modo de ação dos lisofosfolipídios e dos ácidos orgânicos, sendo que o aumento na permeabilidade da membrana ocasionado pelos lisofosfolipídios poderia atuar como um facilitador para os ácidos orgânicos dissociarem íons no interior das células bacterianas. Portanto, seja pelo efeito conjunto desses dois aditivos, ou pelo modo de ação complementar, surge a hipótese de haver alguma interação na combinação de lisofosfolipídios e de ácidos orgânicos em dietas para aves. Vale ainda ressaltar que os benefícios dessa associação podem estar ligados à qualidade das fontes lipídicas a serem utilizadas e à composição da dieta.

4.5 Relações entre a composição da dieta e a microbiota intestinal no aproveitamento de lipídios

O processo de digestão dos alimentos é um sistema complexo que compreende uma série de interações, sensivelmente dependentes de um equilíbrio biológico da flora bacteriana ativa e de extrema importância (SILVA JÚNIOR, 2009). A composição da dieta e a disponibilidade de substrato não aproveitado no TGI, principalmente de substratos fermentáveis como a pectina, exercem influência direta na população de bactérias intestinais (METZLER et al., 2008).

O farelo de soja é um ingrediente amplamente utilizado em dietas para aves como principal fonte de proteína. Em sua composição, há quantidade considerável de pectinas, hemicelulose e oligossacarídeos, que são carboidratos de baixíssima ou nenhuma disponibilidade, e que apresentam alguns fatores antinutricionais. Segundo Parsons, Zhang e Araba (2000), o farelo de soja contém frações de carboidratos de pobre digestibilidade como a rafinose e a estaquiose, que servem de substrato para o crescimento microbiano indesejável no íleo.

Dentre os cereais utilizados, aqueles que têm maiores proporções de carboidratos não digestíveis são os denominados cereais de inverno, como o trigo, a cevada e o centeio (CAMPESTRINI; SILVA; APPELT, 2005). Nesse sentido, Jia et al. (2009) observaram maior número de *Clostridium perfringens* em dietas a base de trigo e farelo de soja comparadas à dietas a base de milho e farelo de soja. Esse relato reforça a afirmação de que a população microbiana no TGI das aves pode ser modulada pela dieta (SANTOS et al., 2007).

O milho, cereal amplamente utilizado em rações avícolas no Brasil, não apresenta grandes frações de baixa digestibilidade como os cereais de inverno, contudo, alguns trabalhos demonstram resultados positivos com a aplicação de aditivos com ação antimicrobiana. Resultados positivos vêm sendo encontrados com a adição de ácidos orgânicos (VIOLA; VIEIRA, 2007), os quais reduzem o pH intestinal das aves controlando a microbiota e proporcionando, conseqüentemente, melhor absorção de nutrientes (AO et al., 2009).

Outra causa inerente às frações dietéticas indigestíveis é o aumento da viscosidade intestinal causada por elementos solúveis como as pentosanas e os β -glucanos. No trigo há a predominância de pentosanas solúveis, que causam aumento da viscosidade intestinal e interferem diretamente na digestão de lipídios, principalmente de gorduras provenientes de fonte animal, como o sebo bovino (MENG; SLOMINSKI; GUENTER, 2004). Em outras

palavras, a elevada taxa de umidade no intestino proporcionada por polissacarídeos não-amiláceos solúveis acentua ainda mais o desafio biofísico da digestão de lipídios, que parece piorar na presença de fontes com predominância de ácidos graxos saturados.

Vários estudos apontam que a emulsificação dos lipídios no TGI, com consequente ação da lipase e colipase, e posterior formação de micelas, ocorre com maior facilidade nos ácidos graxos insaturados do que nos saturados, beneficiando a absorção (BERTECHINI, 2006; SMINK et al., 2008). Segundo Dänicke et al. (1997a, 1999, 2000), os ácidos graxos saturados são mais sensíveis a qualquer inadequação dos fatores de digestão.

Em dietas a base de milho e farelo de soja, raros são os trabalhos que relacionam o melhor aproveitamento de lipídios com aditivos que melhoram a saúde intestinal de frangos de corte. Apesar de bem documentado o efeito das frações indigestíveis de dietas a base de milho e farelo de soja (BARBOSA et al., 2008; FRANCESCH; GARAERT, 2009; TIWARI et al., 2010), em 2003, Pucci et al. não observaram interação da melhora da digestibilidade de dietas compostas por milho e farelo de soja com quatro níveis de inclusão de óleo de soja (0; 2,5; 5,0 e 7,5%). Contudo, os autores não avaliaram a interação com outras fontes lipídicas como o sebo bovino, que possui grande quantidade de ácidos graxos saturados de cadeia longa (BLANCH et al., 1995).

A interação entre os nutrientes (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004) e a capacidade tamponante (SILVA JÚNIOR, 2009) da dieta também podem ser destacados como fatores intrínsecos na assimilação de lipídios e de outros nutrientes, pois estão relacionados ao desenvolvimento intestinal das aves e a atividade de sucos e enzimas digestivas, respectivamente. Por sua vez, o estado do epitélio intestinal, principalmente quanto à espessura, está atrelado à microbiota bacteriana que coloniza o TGI (OETTING et al., 2006; COSTA; TSE; MIYADA, 2007).

Sob este contexto, a viabilização de aditivos como os lisofosfolipídios e os ácidos orgânicos é marco importante na nutrição de aves, abordando a tendente questão mundial da proibição de antimicrobianos e de anticoccidianos químicos, iniciada em 2006 pela Comunidade Europeia. Por fim, dietas mais eficientes originam menores taxas de excreções, atendendo aos movimentos ambientalistas que visam discutir formas de diminuir a eliminação de poluentes no ambiente, que podem ser excretados em maior ou menor quantidade dependendo da formulação. Esse fator contribui para tornar a produção animal mais sustentável e consciente, preservando os ecossistemas e os mananciais de água do planeta.

REFERÊNCIAS

- ADIL, S.; BANDAY, T.; BHAT, G. A.; MIR, M. S.; REHMAN, M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, p. 1-7, 2010.
- ANDREOTTI, M.O.; JUNQUEIRA, O. M.; BARBOSA, M. J. B.; CANCHERINI, L. C.; ARAÚJO, L. F.; RODRIGUES, E. A. Tempo de trânsito intestinal, desempenho, característica de carcaça e composição corporal de frangos de corte alimentados com rações isoenergéticas formuladas com diferentes níveis de óleo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 4, p. 870-879, 2004.
- AO, T.; CANTOR, A. H.; PESATORE, A. J.; FORD, M. J.; PIERCE, J. L.; DAWSON, K. A. Effect of enzyme supplementation and acidification of diets on nutrient digestibility and growth performance of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 88, n. 1, p. 111-117, 2009.
- AZMAN, M. A.; CIFTCI, M. Effects of replacing dietary fat with lecithin on broiler chicken zootechnical performance. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 155, p. 445-448, 2004.
- BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K.; FERNANDES, J. B. K.; DOURADO, L. R. B. Enzimas exógenas no desempenho e na digestibilidade ileal de nutrientes em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 6, p.755-762, 2008.
- BASSAN, J. D. L.; FLÔRES, M. L.; BIANCHI, T. A. E.; KUTTEL, J.; TRINDADE, M. M. Controle da infecção por *Salmonella Enteritidis* em frangos de corte com ácidos orgânicos e mananoligossacarídeo. **Ciência Rural**, v. 38, n. 7, p. 1961-1965, 2008.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 2006.
- BLANCH, A.; BARROETA, A. C.; BAUCCELLS, M. D.; PUCHAL, F. The nutritive value of dietary fats in relation to their chemical composition: apparent fat availability and metabolizable energy in two-week-old chicks. **Poultry Science**, v. 74, n. 8, p. 1335-1340, 1995.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1995. 151 p.
- BOLIN, T.; FRANZÉN, L.; SJÖDAHL, R.; TAGESSON, C. Passage of molecules through the wall of the gastrointestinal tract. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 4, p. 441-448, 1986.
- BOLTON, W.; DEWAR, W.A. The digestibility of acetic, propionic and butyric acids by the fowl. **British Poultry Science**, v. 6, n. 2, p. 103-105, 1965.
- BYRD, J. A.; HARGIS, B. M.; CALDWELL, D. J.; BAILEY, R. H.; HERRON, K. L.; McREYNOLDS, J. L.; BREWER, R. L.; ANDERSON, R. C.; BISCHOFF, K. M.; CALLAWAY, T. R.; KUBENA, L. F. Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. **Poultry Science**, v. 80, n. 3, p. 278-283, 2001.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 6, p. 259-272, 2005.

CHOCT, M. Managing gut health through nutrition. **British Poultry Science**, v. 50, n. 1, p. 9-15, 2009.

CHOWDHURY, R.; ISLAM, K.M.S.; KHAN, M. J.; KARIM, M. R.; HAQUE, M. N.; KHATUN, M.; PESTI, G. M. Effect of citric acid, avilamycin, and their combination on the performance, tibia ash, and immune status of broilers. **Poultry Science**, v. 88, n. 8, p. 1616-1622, 2009.

COATES, M. E.; FULLER, R.; HARRISON, G. F., LEV, M.; SUFFOLK, S. F. A comparison of the growth of chicks in the gustafsson germ-free apparatus and in a conventional environment, with and without dietary supplements of penicillin. **British Journal of Nutrition**, v. 17, n. 1, p. 141-150, 1963.

COONROD, J. D.; YONEDA, K. Detection and partial characterization of antibacterial factor(s) in alveolar lining material of rats. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 71, n. 1, p. 129-141, 1983.

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

DALMASSO, G.; NGUYEN, H. T. T.; YAN, Y.; CHARRIER-HISAMUDDIN, L.; SITARAMAN, S. V.; MERLIN, D. Butyrate transcriptionally enhances Peptide transporter PepT1 expression and activity. **PLoS ONE**, v.6, n. 3, p. e2476, 2008.

DÄNICKE, S.; JEROCH, H.; BÖTTCHER, W.; SIMON, O. Interactions between dietary fat type and enzyme supplementation in broiler diets with high pentosan contents: effects on precaecal and total tract digestibility of fatty acids, metabolizability of gross energy, digesta viscosity and weights of small intestine. **Animal Feed Science and Technology**, v. 84, n. 3-4, p. 279-294, 2000.

DÄNICKE, S.; SIMON, O.; JEROCH, H.; BEDFORD, M. Interactions between dietary fat type and xylanase supplementation when rye-based diets are fed to broiler chickens 2. Performance, nutrient digestibility and the fat-soluble vitamin status of livers. **British Poultry Science**, v. 38, n. 5, p. 546-556, 1997a.

DÄNICKE, S.; SIMON, O.; JEROCH, H.; BEDFORD, M. Interactions between dietary fat type and xylanase supplementation when rye-based diets are fed to broiler chickens. 1. physicochemical chime features. **British Poultry Science**, v. 38, n. 5, p. 537-545, 1997b.

DÄNICKE, S.; VAHJEN, W.; SIMON, O.; JEROCH, H. Effects of dietary fat type and xylanase supplementation to rye-based broiler diets on selected bacterial groups adhering to the intestinal epithelium, on transit time of feed, and on nutrient digestibility. **Poultry Science**, v. 78, p. 1292-1299, 1999.

DENNIS, E. A. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A₂. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 18, p. 13057-13060, 1994.

DUARTE, F. D.; LARA, L. J. C.; BAIÃO, N. C.; CANÇADO, S. V.; TEIXEIRA, J. L. Efeito da inclusão de diferentes fontes lipídicas em dietas para frangos de corte sobre o desempenho, rendimento e composição da carcaça. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 2, p. 439-444, 2010.

DUBOUIX, A.; CAMPANAC, C.; FAUVEL, J.; SIMON, M. F.; SALLES, J. P.; ROQUES, C.; CHAP, H.; MARTY, N. Bactericidal properties of group IIa secreted phospholipase A₂ against *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. **Journal of Medical Microbiology**, v. 52, n. 12, p. 1039-1045, 2003.

FEIGHNER, S. D.; DASHKEVICZ, M. P. Effect of dietary carbohydrates on bacterial cholytaurine hydrolase in poultry intestinal homogenates. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 337-342, 1988.

FEIGHNER, S. D.; DASHKEVICZ, M. P. Subtherapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholytaurine hydrolase activity. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 2, p. 331-336, 1997.

FRANCESCH, M.; GERAERT, P. A. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improves growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. **Poultry Science**, v. 88, n. 9, p. 1915-1924, 2009.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., 2004, Balneário Camboriú. **Anais...** Balneário Camboriú: Embrapa, 2004. p. 6-28.

GAIOTTO, J. B.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; IAFIGLIOLA, M. C. Óleo de soja, óleo ácido de soja e sebo bovino como fontes de gordura em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 3, p. 219-227, 2000.

HOMAN, R.; HAMELEHLE, K. L. Phospholipase A₂ relieves phosphatidylcholine inhibition of micellar cholesterol absorption and transport by human intestinal cell line Caco-2. **Journal of Lipid Research**, v. 39, p. 1197-1209, 1998.

HONG, C.W.; KIM, T. K.; HAM, H. Y.; NAM, J. S.; KIM, Y. H.; ZHENG, H.; PANG, B.; MIN, T. K.; JUNG, J. S.; LEE, S. N.; CHO, H. J.; KIM, E. J.; HONG, I. H.; KANG, T. C.; LEE, J.; OH, S. B.; JUNG, S. J.; KIM, S. J.; SONG, D. K. Lysophosphatidylcholine increases neutrophil bactericidal activity by enhancement of azurophil granule-phagosome fusion via glycine·GlyRα2/TRPM2/p38 MAPK signaling. **The Journal of Immunology**, v. 184, n. 8, p. 4401-4413, 2010.

HUANG, J.; YANG, D.; WANG, T. Effects of replacing soy-oil with soy-lecithin on growth performance, nutrient utilization and serum parameters of broilers fed corn-based diets. **Asian – Australian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 12, p. 1880-1886, 2007.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. V. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 182-188, 2011.

IMMERSEEL, F. V.; RUSSEL, J. B.; FLYTHE, M. D.; GANTOIS, I.; TIMBERMONT, L.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. **Avian Pathology**, v. 35, n. 3, p. 182-188, 2006.

JIA, W.; SLOMINSKI, B. A.; BRUCE, H. L.; BLANK, G.; CROW, G.; JONES, O. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens

during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. **Poultry Science**, v. 88, n. 1, p. 132-140, 2009.

JUNQUEIRA, O. M.; ANDREOTTI, M. O.; ARAÚJO, L. F.; DUARTE, K. F.; CANCHERINI, L. C.; RODRIGUES, E. A. Valor energético de algumas fontes lipídicas determinado com frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2335-2339, 2005.

KABAROWSKI, J. H. S.; ZHU, K.; LE, L. Q.; WITTE, O. N.; XU, Y. Lysophosphatidylcholine as a ligand for the immunoregulatory receptor G2A. **Science**, v. 293, n. 5530, p. 702-705, 2001.

KARLQVIST, P. A.; FRANZÉN, L.; SJÖDAHL, R.; TAGESSON, C. A study of the permeability of rat stomach to larger molecules. Influence of lysophosphatidylcholine. **Acta Chirurgica Scandinavica**, v. 152, p. 274-284, 1986.

KNARREBORG, A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, S. K.; JENSEN, B. B. Quantitative determination of bile salt hydrolase activity in bacteria isolated from the small intestine of chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 6425–6428, 2002b.

KNARREBORG, A.; SIMON, M. A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, B. B.; TANNOCK, G. W. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 5918–5924, 2002a.

KUME, N.; GIMBRONE JR, M.A. Lysophosphatidylcholine transcriptionally induces growth factor gene expression in cultured human endothelial cells. **The Journal of Clinical Investigation**, v.93, n.2, p.907-911, 1994.

KUSSAIBATI, R.; GUILLAUME, J.; LECLERCQ, B. The effects of age, dietary fat and bile salts, and feeding rate on apparent and true metabolisable energy values in chickens. **British Poultry Science**, v. 23, n. 5, p. 383-403, 1982.

LARA, L. J. C.; BAIÃO, N. C.; AGUILAR, C. A. L.; CANÇADO, S. V.; FIUZA, M. A.; RIBEIRO, B. R. C. Efeito de fontes lipídicas sobre o desempenho de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 6, p. 792-798, 2005.

LEANDRO, N. S. M.; CAFÉ, M. B.; STRINGHINI, J. H.; MORAES FILHO, R.; MOURA, K. A.; SILVA JÚNIOR, R. P. Plano nutricional com diferentes níveis de proteína bruta e energia metabolizável na ração, para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 3, p. 620-631, 2003.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Fat ME values: the effect of fatty acid saturation. **Feedstuffs**, v. 48, p. 26-28, 1976.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. 4. ed. Ontario: University Books, 2001. 413 p.

LILLIE, R. J.; SIZEMORE, J. R.; BIRD, H. R. Environment and stimulation of growth of chicks by antibiotics. **Poultry Science**, v. 32, n. 3, p. 466-475, 1953.

MAISONNIER, S.; GOMEZ, J.; BRÉE, A.; BERRI, C.; BAÉZA, E.; CARRÉ, B. Effects of microflora status, dietary bile salts and guar gum on lipid digestibility, intestinal bile salts, and histomorphology in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, n. 5, p. 805–814, 2003.

MATHLOUTHI, N.; LALLÈS, J. P.; LEPERCQ, P.; JUSTE, C.; LARBIER, M. Xylanase and β -glucanase supplementation improve conjugated bile acid fraction in intestinal contents and increase villus size of small intestine wall in broiler chickens fed a rye-based diet. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 11, p. 2773–2779, 2002.

MENG, X.; SLOMINSKI, B. A.; GUENTER, W. The effect of fat type, carboidrase, and lipase addition on growth performance and nutrient utilization of young broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, v. 83, p. 1718-1727, 2004.

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

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

PARSONS, C. M.; ZHANG, Y.; ARABA, M. Nutritional evaluation of soybean meals varying in oligosaccharide content. **Poultry Science**, v. 79, n. 8, p. 1127-1131, 2000.

PENG, L.; HE, Z.; CHEN, W.; HOLZMAN, I.R.; LIN, J. Effects of butyrate on intestinal barrier function in a Caco-2 cell monolayer model of intestinal barrier. **Pediatric Research**, v. 61, n. 1, p. 37-41, 2007.

POLIN, D.; WING, T. L.; KI, P.; PELL, K. E. The effect os bile acids and lipase on absorption of tallow in young chicks. **Poultry Science**, v. 59, n. 12, p. 2738-2743, 1980.

PUCCI, L. E. A.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; BERTECHINI, A. G.; CARVALHO, E.M. Níveis de óleo e adição de complexo enzimático na ração de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 4, p. 909-917, 2003.

RABER, M. R.; RIBEIRO, A. M. L.; KESSLER, A. M.; ARNAIZ, V. Suplementação de glicerol ou de lecitina em diferentes níveis de ácidos graxos livres em dietas para frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 745-753, 2009.

RABER, M. R.; RIBEIRO, A. M. L.; KESSLER, A. M.; ARNAIZ, V.; LABRES, R. V. Desempenho, metabolismo e níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos em frangos de corte alimentados com óleo ácido e óleo de soja. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1730-1736, 2008.

RAJU, M. V. L. N.; RAMA RAO, S. V.; CHAKRABARTI, P. P.; RAO, B. V. S. K.; PANDA, A. K.; PRABHAVATHI DEVI, B. L. A.; SUJATHA, V.; REDDY, J. R. C.; SHYAM SUNDER, G.; PRASAD, R. B. N. Rice bran lysolecithin as a source of energy in broiler chicken diet. **British Poultry Science**, v. 52, n. 6, p. 769-774, 2011.

RENNER, R.; HILL, F. W. Factors affecting the absorbability of saturated fatty acids in the chick. **The Journal of Nutrition**, v. 74, p. 254-258, 1961.

REZENDE, C. S. M.; MESQUITA, A. J.; ANDRADE, M. A.; STRINGHINI, J. H.; CHAVES, L. S.; MINAFRA, C. S.; LAGE, M. E. Ácido acético em rações de frangos de corte experimentalmente contaminadas com *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 3, p. 516-528, 2008.

RIBEIRO, R. P.; FLEMMING, J. S.; BACILA, A. R. Uso de leveduras (*saccharomyces cerevisiae*), parede celular de leveduras (sscw), ácidos orgânicos e avilamicina na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n. 3, p. 210-217, 2008.

RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 632-639, 2003.

SAKOMURA, N. K.; LONGO, F. A.; RABELLO, C. B.; WATANABE, K.; PELÍCIA, K.; FREITAS, E. R. Efeito do nível de energia metabolizável da dieta no desempenho e metabolismo energético de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1758-1767, 2004.

SALAZAR, P. C. R.; ALBUQUERQUE, R.; TAKEARA, P.; TRINDADE NETO, M. A.; ARAÚJO, L. F. Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho e morfometria intestinal em frangos de corte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 6, p. 463-471, 2008.

SANTOS, F. B. O.; SHELDON, B. W.; SANTOS JR., A. A.; FERKET, P. R.; LEE, M. D.; PETROSO, A.; SMITH, D. Determination of ileum microbial diversity of broilers fed triticales- or corn-based diets and colonized by *Salmonella*. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 4, p. 563-573, 2007.

SELL, J. L.; KROGDAHL, A.; HANYU, N. Influence of age on utilization of supplemental fats by young turkeys. **Poultry Science**, v. 65, n. 3, p. 546-554, 1986.

SILVA JÚNIOR, A. Interações químico-fisiológicas entre acidificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolipídios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 238-245, 2009. N. Especial.

SMINK, W.; GERRITS, W. J. J.; HOVENIER, R.; GEELLEN, M. J. H.; LOBEE, H. W. J.; VERSTEGEN, M. W. A.; BEYNEM, A. C. Fatty acid digestion and deposition in broiler chickens fed diets containing either native or randomized palm oil. **Poultry Science**, v. 87, n. 3, p. 506-513, 2008.

SUGAWARA, T.; KUSHIRO, M.; ZHANG, H.; NARA, E.; ONO, H.; NAGAO, A. Lysophosphatidylcholine enhances carotenoid uptake from mixed micelles by caco-2 human intestinal cells. **The Journal of Nutrition**, v.131, n.11, p.2921-2927, 2001.

TAGESSON, C.; FRANZÉN, L.; DAHL, G.; WESTRÖM, B. Lysophosphatidylcholine increases rat ilea permeability to macromolecules. **Gut**, v. 26, n. 4, p. 369-377, 1985.

TIWARI, S. P.; GENDLEY, M. K.; PATHAK, A. K.; GUPTA, R. Influence of an enzyme cocktail and phytase individually or in combination in Ven Cobb broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 51, n. 1, p. 92-100, 2010.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 1097-1104, 2007. Supplement.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L.; TORRES, C. A.; FREITAS, D. M.; BERRES, J. Desempenho de frangos de corte sob suplementação com ácidos láctico, fórmico, acético e fosfórico no alimento ou na água. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 296-302, 2008.

ZHANG, B.; HAITAO, L.; ZHAO, D.; GUO, Y.; BARRI, A. Effect of fat type and lysophosphatidylcholine addition to broiler diets on performance, apparent digestibility of fatty acids, and apparent metabolizable energy content. **Animal Feed Science and Technology**, v. 163, n. 2, p. 177-184, 2011.

CAPÍTULO II

Efeitos da inclusão de fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos em dietas a base de milho para frangos de corte: 1. Digestibilidade de nutrientes, desempenho e composição e teor de ácidos graxos da carcaça

Effects of lipid sources, lysophospholipids and organic acids in corn based diets for broilers: 1. Nutrient digestibility, performance and carcass composition and fatty acids content

5 INTRODUÇÃO

A inclusão de lipídios na dieta de frangos de corte é amplamente praticada e fundamental para que a exigência de energia metabolizável seja adequadamente atendida, principalmente nas fases finais de criação. A utilização de lipídios em vez de carboidratos promove melhor desempenho (POLYCARPO et al., 2014) e fornece ácidos graxos essenciais, que podem alterar a composição da carcaça (NEWMAN et al., 2002; HAUG et al., 2007; MOGHADASIAN, 2008).

Ao longo dos anos, pesquisas vêm demonstrando a possibilidade do emprego de emulsificantes com o intuito de incrementar a digestibilidade de óleos e gorduras, tais como os sais biliares (POLIN et al., 1980; KUSSAIBATI; GUILLAUME; LECLERCQ, 1982), a lecitina de soja (AZMAN; CIFTCI, 2004; HUANG; YANG; WANG, 2007; HUANG et al., 2008) e a caseína (GUERREIRO NETO et al., 2011). Os lisofosfolipídios são uma gama de moléculas emulsificantes presentes naturalmente no intestino das aves, originada pela ação da enzima pancreática fosfolipase A₂ sobre os fosfolipídios presentes na dieta e nos sais biliares (SILVA JÚNIOR, 2009). A conversão de fosfolipídios em lisofosfolipídios modifica a característica química da molécula (STAFFORD; DENNIS, 1988), que, em baixas quantidades (inclusões de 0,1 – 0,5%), produz emulsões mais estáveis (AURA et al., 1994) e com menor tamanho de partículas (CABEZAS; MADDOERY; DIEHL, 2012).

Outra ação dos lisofosfolipídios está relacionada com o efeito antibacteriano (COONROD; YONEDA, 1983), podendo atuar em conjunto auxiliando no efeito dos ácidos orgânicos sobre a microbiota intestinal (RICKE, 2003). É sabido que os microrganismos alteram a digestão dos lipídios por terem a capacidade de desconjugar os sais biliares (KNARREBORG et al., 2002a), causando prejuízos na emulsão com consequências sobre o crescimento de frangos de corte (FEIGHNER; DASHKEVICZ, 1987). A qualidade da

carcaça também pode ser modificada em decorrência da nutrição, atendendo o emergente número de consumidores cada vez mais preocupados com a qualidade nutricional dos alimentos.

Considerando o que foi exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de dietas contendo óleo de soja ou sebo bovino suplementadas ou não com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos sobre a utilização de nutrientes, desempenho e sobre a composição e perfil de ácidos graxos da carcaça.

6 MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e Dietas Experimentais

O delineamento foi inteiramente casualizado com os tratamentos organizados em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$, sendo duas fontes lipídicas (óleo de soja ou sebo bovino), contendo ou não lisofosfolipídios e ácidos orgânicos, com oito repetições. As dietas foram compostas a base de milho e farelo de soja, formuladas com níveis isoenergéticos e isoaminoácídicos, de acordo com os valores preconizados por Rostagno et al. (2011) (Tabela 1). Para compensar o maior valor energético do óleo de soja, foi previamente calculada a quantidade exata de amido incluída em substituição ao caulim (material inerte) nas dietas contendo sebo bovino, a fim de ajustar o valor energético entre as dietas com diferentes fontes lipídicas. Os aditivos foram incluídos *on top* em substituição ao material inerte de acordo com cada tratamento. Os lisofosfolipídios foram compostos principalmente por lisolecitinas, que são substâncias emulsificantes produzidas a partir do enriquecimento enzimático da lecitina de soja pela atividade da enzima fosfolipase A₂, produzindo, principalmente, lisofosfatidilcolina. O *pool* de ácidos orgânicos foi composto pelo ácido láctico (40%), acético (7%) e butírico (1%). Antibióticos e coccidiostáticos foram omitidos das dietas para não interferir com os aditivos propostos. Água e ração foram fornecidas *ad libitum*.

A composição calculada de ácidos graxos das dietas foi realizada a partir da análise das fontes lipídicas e das frações gordurosas dos ingredientes (Tabela 2). O perfil de ácidos graxos foi determinado pelo método de extração de Bligh e Dyer (1959); Christie (1982) e Smedes e Thomasen (1996). A gordura separada foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com Kramer, Fellner e Dugan (1997). Dois padrões internos C18:0 e C19:0 (Sigma Aldrich®) foram utilizados para corrigir as perdas durante o processo de metilação. Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimadzu 2010, com injeção automática), usando coluna capilar SP-2560 (100 m $\times$ 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70°C por 4 minutos (13°C minuto⁻¹) até chegar a 175°C, mantendo por 27 minutos. Depois, um novo aumento de 4°C minuto⁻¹ foi iniciado até 215°C, mantendo por 31 minutos. O hidrogênio (H₂) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm s⁻¹. Durante o processo de identificação foram utilizados quatro padrões: standard C4-24 de ácidos graxos (Supelco® TM 37), ácido vacênico C18:1 *trans*-11 (V038-1G, Sigma®) e C18:2 CLA: *trans*-10, *cis*-12 (UC-61M 100 mg), C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (UC-60M 100 83 mg), (NU-CHEK-PREP EUA®).

Tabela 1 - Composição e valores calculados das dietas experimentais a base de milho e farelo de soja

Ingredientes (%)	Dietas ¹							
	1 – 7 dias		8 – 21 dias		22 – 33 dias		34 – 42 dias	
	OS	SB	OS	SB	OS	SB	OS	SB
Milho 7,88	53,15		58,47		61,11		64,87	
Farelo de soja 45	36,90		32,64		29,80		26,95	
Glúten milho 60	0,592		0,072		0,368		0,094	
Óleo de soja	2,700	-	2,700	-	3,150	-	3,150	-
Sebo bovino	-	2,700	-	2,700	-	3,150	-	3,150
Amido	-	1,063	-	1,063	-	1,240	-	1,240
Sal comum	0,350		0,350		0,350		0,350	
Bicarbonato Na	0,233		0,196		0,159		0,139	
Fosfato bicálcico	1,928		1,526		1,325		1,036	
Calcário calcítico	0,909		1,035		0,890		0,828	
L-lisina	0,320		0,244		0,205		0,195	
DL-metionina	0,357		0,284		0,243		0,214	
Treonina	0,116		0,072		0,040		0,031	
Valina	0,086		0,041		0,016		0,008	
Lisofosfolipídios	0,100		0,100		0,100		0,100	
Ácidos orgânicos	0,800		0,800		0,600		0,400	
Caulim	1,063	-	1,063	-	1,240	-	1,240	-
Premix vit/min ²	0,400		0,400		0,400		0,400	
Total	100,0		100,0		100,0		100,0	
Valores Calculados								
EMAn, kcal/kg	2,925		2,980		3,050		3,100	
PB, %	22,00		20,00		19,00		17,80	
EE, %	5,26		5,37		5,87		5,96	
Fibra bruta, %	2,882		2,743		2,641		2,551	
Cálcio, %	0,920		0,860		0,750		0,650	
Fósforo dig, %	0,395		0,337		0,307		0,266	
Lisina dig, %	1,304		1,141		1,045		0,969	
Met+Cis dig, %	0,939		0,822		0,763		0,707	
Treonina dig, %	0,848		0,742		0,679		0,630	
Triptofano dig, %	0,242		0,219		0,204		0,189	
Valina dig, %	1,004		0,879		0,815		0,756	
Sódio, %	0,220		0,210		0,200		0,195	
Ác linoleico, %	2,770	1,434	2,828	1,491	3,093	1,534	3,136	1,577

¹OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.²Suplemento vitamínico e mineral para frangos de corte na fase pré-inicial (níveis por kg de produto): Vitamina A (mínimo) 2.000.000,00 U.I/kg; Vitamina D3 (mínimo) 600.000,00 U.I/kg; Vitamina E (mínimo) 3.000,00 U.I/kg; Vitamina K3 (mínimo) 500,00 mg/kg; Vitamina B1 (mínimo) 600,00 mg/kg; Vitamina B2 (mínimo) 1.500,00 mg/kg; Vitamina B6 (mínimo) 1.000,00 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo) 3.500,00 mcg/kg; Niacina (mínimo) 10,00 g/kg; Ácido Pantotênico (mínimo) 3.750,00 mg/kg; Ácido Fólico (mínimo) 250,00 mg/kg; Colina (mínimo) 86,60 g/kg; Ferro (mínimo) 12,50 g/kg; Manganês (mínimo) 17,50 g/kg; Zinco (mínimo) 12,50 g/kg; Cobre (mínimo) 25,00 g/kg; Iodo (mínimo) 300,00 mg/kg; Selênio (mínimo) 50,00 mg/kg.

Suplemento vitamínico e mineral para frangos de corte na fase inicial (níveis por kg de produto): Vitamina A (mínimo) 1.750.000,00 U.I/kg; Vitamina D3 (mínimo) 550.000,00 U.I/kg; Vitamina E (mínimo) 2.750,00 U.I/kg; Vitamina K3 (mínimo) 400,00 mg/kg; Vitamina B1 (mínimo) 500,00 mg/kg; Vitamina B2 (mínimo) 1.250,00 mg/kg; Vitamina B6 (mínimo) 750,00 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo) 3.000,00 mcg/kg; Niacina (mínimo) 8.750,00 mg/kg; Ácido Pantotênico (mínimo) 3.250,00 mg/kg; Ácido Fólico (mínimo) 200,00 mg/kg; Colina (mínimo) 82,00 g/kg; Ferro (mínimo) 12,50 mg/kg; Manganês (mínimo) 17,50 g/kg; Zinco (mínimo) 12,50 g/kg; Cobre (mínimo) 25,00 g/kg; Iodo (mínimo) 300,00 mg/kg; Selênio (mínimo) 50,00 mg/kg.

Suplemento vitamínico e mineral para frangos de corte na fase de crescimento (níveis por kg de produto): Vitamina A (mín.) 1.500.000,00 U.I/kg; Vitamina D3 (mín.) 500.000,00 U.I/kg; Vitamina E (mín.) 2.500,00 U.I/kg; Vitamina K3 (mín.) 400,00 mg/kg; Vitamina B1 (mín.) 350,00 mg/kg; Vitamina B2 (mín.) 1.000,00 mg/kg; Vitamina B6 (mín.) 500,00 mg/kg; Vitamina B12 (mín.) 2.500,00 mcg/kg; Niacina (mín.) 7.500,00 mg/kg; Ácido Pantotênico (mín.) 2.750,00 mg/kg; Ácido Fólico (mín.) 150,00 mg/kg; Colina (mín.) 60,40 g/kg; Cobre (mín.) 25,00 g/kg; Ferro (mín.) 12,50 g/kg; Manganês (mín.) 17,50 g/kg; Zinco (mín.) 12,50 g/kg; Iodo (mín.) 300,00 mg/kg; Selênio (mín.) 50,00 mg/kg.

Suplemento vitamínico e mineral para frangos de corte na fase final (níveis por kg de produto): Vitamina A (mínimo) 1.250.000 U.I/kg; Vitamina D3 (mínimo) 250.000 U.I/kg; Vitamina E (mínimo) 2.000 U.I/kg; Vitamina K3 (mínimo) 400 mg/kg; Vitamina B2 (mínimo) 500 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo) 1.250 mcg/kg; Niacina (mínimo) 5.000 mg/kg; Ácido Pantotênico (mínimo) 2.250 mg/kg; Colina (mínimo) 31,900 g/kg; Ferro (mínimo) 12,500 g/kg; Manganês (mínimo) 17,500 g/kg; Zinco (mínimo) 12,500 g/kg; Cobre (mínimo) 2.000 mg/kg; Iodo (mínimo) 300,000 mg/kg; Selênio (mínimo) 50,000 mg/kg.

Tabela 2 - Perfil de ácidos graxos das dietas a base de milho e farelo de soja

g / 100g de ácidos graxos	Dietas ¹							
	1 – 7 dias		8 – 21 dias		22 – 33 dias		34 – 42 dias	
	OS	SB	OS	SB	OS	SB	OS	SB
C10:0	0,02	0,05	0,02	0,05	0,02	0,05	0,02	0,05
C12:0	0,13	0,21	0,14	0,22	0,14	0,22	0,14	0,22
C14:0	0,14	1,61	0,14	1,58	0,13	1,67	0,13	1,65
C14:1 <i>cis</i> -9	-	0,27	-	0,27	-	0,28	-	0,28
C15:0	-	0,31	-	0,30	-	0,32	-	0,32
C16:0	12,14	20,11	12,08	19,89	11,97	20,30	11,94	20,15
C16:1 <i>cis</i> -9	0,20	1,47	0,20	1,44	0,19	1,52	0,19	1,50
C17:0	0,05	0,66	0,04	0,64	0,05	0,68	0,05	0,67
C18:0	3,74	12,90	3,75	12,72	3,72	13,28	3,73	13,16
C18:1 <i>trans</i> -9	-	0,10	-	0,10	-	0,11	-	0,10
C18:1 <i>trans</i> -11	-	1,35	-	1,32	-	1,41	-	1,39
C18:1 <i>cis</i> -9	25,26	32,72	25,59	32,89	25,49	33,28	25,70	33,38
C18:2 <i>cis</i> -9, 12	53,30	25,89	53,15	26,30	53,36	24,71	53,26	25,01
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	-	0,25	-	0,25	-	0,27	-	0,26
C18:3 <i>cis</i> -9, 12, 15	4,17	1,39	4,02	1,30	4,08	1,18	3,99	1,13
C20:0	0,42	0,35	0,43	0,36	0,43	0,35	0,43	0,36
C20:1 <i>cis</i> -11	0,07	0,16	0,07	0,17	0,07	0,17	0,07	0,17
C20:2 <i>cis</i> -11, 14	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,04	0,02	0,04
C20:3 <i>cis</i> -8, 11, 14	-	0,01	-	0,01	-	0,01	-	0,01
C20:4 <i>cis</i> -5, 8, 11, 14	-	0,03	-	0,03	-	0,03	-	0,03
C21:0	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01
C22:0	0,30	0,11	0,30	0,11	0,30	0,10	0,30	0,10
C23:0	0,02	<0,01	0,02	<0,01	0,02	<0,01	0,02	<0,01
Σ								
Saturados	16,98	36,31	16,95	35,88	16,79	36,99	16,78	36,70
Insaturados	83,02	63,69	83,05	64,12	83,21	63,01	83,22	63,30
Monoinsaturados	25,53	36,08	25,86	36,19	25,75	36,77	25,96	36,83
Polinsaturados	57,49	27,61	57,19	27,93	57,46	26,24	57,27	26,48
Insaturados/saturados	4,89	1,75	4,90	1,79	4,95	1,70	4,96	1,73
ω -9	25,33	32,98	25,66	33,16	25,56	33,56	25,77	33,66
ω -7	0,20	3,09	0,20	3,01	0,19	3,19	0,19	3,15
ω -6	53,32	25,96	53,17	26,37	53,38	24,79	53,28	25,09
ω -3	4,17	1,39	4,02	1,30	4,08	1,18	3,99	1,13
ω -6/3	12,79	18,63	13,22	20,22	13,08	20,99	13,35	22,21

¹OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Aves

Foram utilizados 1.216 pintos de corte com um dia de idade, machos, da linhagem Cobb[®]. No primeiro e segundo experimento foram alojadas 448 e 768 aves, perfazendo 7 e 12 aves por unidade experimental, respectivamente. O peso médio inicial das aves foi de 46,16 g $\pm$ 0,6084 (P>0,05). O programa de luz adotado foi de acordo com o manual da linhagem.

Experimento I

Utilização de Nutrientes

No experimento de digestibilidade foi utilizado o método de coleta total de excretas. As aves foram alojadas em gaiolas metabólicas munidas de comedouro frontal, bebedouro do tipo *nipple* e bandejas de aço inoxidável para o recolhimento das excretas. Os ensaios metabólicos ocorreram dos seis aos 14 dias de idade das aves, com quatro dias de adaptação às dietas experimentais e quatro dias para o recolhimento das excretas, que ocorreu duas vezes ao dia, às 8h00 e 17h00.

As excretas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas por repetição e armazenadas em freezer a -16°C . Ao final do período experimental foi determinada a quantidade de ração consumida, bem como a quantidade total de excretas produzidas, que foram descongeladas e homogeneizadas. Uma alíquota de cada repetição foi retirada e pesada, sendo em seguida colocada em estufa com ventilação forçada à temperatura de 55°C por 72 horas, a fim de se proceder a pré-secagem. Posteriormente, as amostras foram expostas ao ar para que houvesse equilíbrio com a temperatura e umidade ambiente. Em seguida foram pesadas, moídas e acondicionadas em recipientes para as análises laboratoriais.

Foram determinados os teores de umidade, matéria seca, nitrogênio e extrato etéreo das excretas e das rações, segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002) e energia bruta através de bomba calorimétrica (IKA[®] modelo C5003), para obter as informações dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), do nitrogênio (CDN), do extrato etéreo (CDEE) e da energia bruta corrigida pelo balanço de nitrogênio (CDEBn). Os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes foram determinados pela seguinte fórmula:

$$\text{CD nutriente (\%)} = \frac{(\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado})}{(\text{nutriente ingerido})} \times 100$$

O CDEBn foi determinado pela fórmula que apresenta-se a seguir. O valor de energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nutrientes (EMAn) foi calculado utilizando as equações propostas por Matterson et al. (1965):

$$\text{CDEBn} = \frac{\text{EMAn}}{\text{EB da dieta}} \times 100$$

$$\text{EMAn da ração (kcal/kg)} = \frac{(\text{EB ingerida} - (\text{EB excretada} + 8,22 \times \text{BN}))}{\text{Ingestão de alimento}}$$

Em que: EB = energia bruta, BN = balanço de nitrogênio = N ingerido – N excretado.

Experimento II

Desempenho

As aves foram alojadas em piso num aviário com 64 boxes de 0,9 x 1,4 m, em densidade de 9,5 aves/m². Foi utilizado um comedouro infantil por boxe até o sétimo dia de criação, sendo substituído por comedouro adulto que permaneceu até o final da criação. Os comedouros foram do tipo tubular e os bebedouros do tipo *nipple*. A altura dos comedouros e bebedouros foi ajustada conforme necessário, acompanhando o crescimento das aves. A cama foi de casca de arroz com 20 cm de espessura, reutilizada em sua segunda criação. O monitoramento do ambiente foi feito a cada duas horas por meio de um *data logger* posicionado dentro do galpão na altura das aves. A temperatura, a umidade relativa e a temperatura de globo negro apresentaram médias máximas, mínimas e instantâneas de: 28,62 ± 4,96°C, 18,03 ± 2,73°C, 22,43 ± 4,27°C, 84,89 ± 3,67%, 51,56 ± 10,38%, 71,86 ± 12,69%, 28,12 ± 1,86°C, 18,27 ± 3,72°C e 22,63 ± 4,26°C, respectivamente.

As variáveis analisadas foram: ganho de peso médio (GPM), calculado nos períodos acumulados de 1-14, 1-21 e 1-42 dias, avaliado pela diferença entre o peso corporal médio no período e o peso corporal médio no alojamento; consumo de ração médio (CRM), mensurado pela diferença entre a ração fornecida e a consumida, corrigido pelo número de aves mortas; conversão alimentar (CA), obtida pela razão entre o CRM e o GPM das aves, corrigido pelo peso das aves mortas. A viabilidade de cada unidade experimental foi obtida pela subtração: 100 - mortalidade. A mortalidade foi medida diariamente entre às 7h00 e 19h00, sendo que as aves mortas depois das 19h00 entraram na contagem da mortalidade do dia seguinte. O valor obtido foi calculado em porcentagem. O índice de eficiência produtiva foi avaliado ao final do experimento (42 dias de idade) pela seguinte fórmula:

$$\text{IEP} = (((\text{VIAB} \times \text{GPMD}) / \text{CA}) / 10)$$

Onde: IEP = Índice de eficiência produtiva; VIAB = viabilidade (%); GPMD = ganho de peso médio diário (g), calculado com o ganho de peso médio dividido pelo número de dias do experimento; CA = conversão alimentar.

Composição e Teor de Ácidos Graxos da Carcaça

Ao término da criação (42 dias), uma ave por repetição foi submetida à jejum alimentar de oito horas, identificada, pesada e abatida. Posteriormente, as aves sem pés, cabeça e pescoço, depenadas, sangradas e com vísceras e gordura abdominal foram cortadas em pedaços com a ajuda de uma serra de fita e moídas em moedor de carne convencional. Após a moagem, as carcaças foram homogeneizadas, acondicionadas em duas placas de Petri e liofilizadas. O conteúdo de uma das placas de Petri foi destinado às análises de composição de carcaça, onde foram analisados os teores de umidade, nitrogênio e extrato etéreo. A segunda placa de Petri foi reservada para as análises de ácidos graxos. Os métodos aplicados na extração da gordura, metilação e análise dos ácidos graxos foram os mesmos empregados nas análises das frações lipídicas dos ingredientes usados nas rações.

Análises Estatísticas

A análise dos dados foi realizada com o auxílio do pacote estatístico SAS (2012), com critério de 5% de significância. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento MIXED. Quando necessário, as diferenças entre os tratamentos foram estudadas comparando-se as médias estimadas dos quadrados mínimos (LSMEANS) calculadas pelo comando PDIFF (*Compared Pairwise*). O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + c_k + (a \times b)_{ij} + (a \times c)_{ik} + (b \times c)_{jk} + (a \times b \times c)_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde: Y_{ijk} = variável resposta dos frangos alimentados com as fontes lipídicas (i), lisofosfolipídios (j) e ácidos orgânicos (k). μ = efeito geral da média. a_i = efeito fixo das fontes lipídicas. b_j = efeito fixo da suplementação de lisofosfolipídios. c_k = efeito fixo da inclusão de ácidos orgânicos. $(a \times b)_{ij}$ = interação das fontes lipídicas com os lisofosfolipídios. $(a \times c)_{ik}$ = interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos. $(b \times c)_{jk}$ = interação dos lisofosfolipídios com os ácidos orgânicos. $(a \times b \times c)_{ijk}$ = interação tríplice entre as fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos. e_{ijk} = erro termo (resíduo).

Os dados que não apresentaram normalidade de resíduos (teste de Shapiro-Wilk pelo procedimento UNIVARIATE) foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis por meio do procedimento NPAR1WAY.

7 RESULTADOS

Utilização de Nutrientes

Na fase inicial houve interação das fontes lipídicas com os lisofosfolipídios sobre o CDEE (Tabela 3), que melhorou com a inclusão de lisofosfolipídios em dietas contendo sebo bovino (Gráfico 1). As dietas com óleo de soja apresentaram melhor CDEE, independente da inclusão ou não de lisofosfolipídios. Ainda, as fontes lipídicas influenciaram o CDEBn, que foi maior em dietas contendo óleo de soja. O CDMS e o CDN não foram influenciados pelos tratamentos.

Tabela 3 - Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia bruta em frangos de corte alimentados com dietas iniciais a base de milho

Efeitos ¹		Fase inicial			
		CDMS ²	CDN	CDEE	CDEBn
Lipídio	OS	70,37	62,03	80,06	75,94
	SB	70,68	61,83	75,10	74,72
LF	com	70,55	62,11	77,88	75,45
	sem	70,49	61,75	77,28	75,20
AO	+	70,54	62,20	77,94	75,11
	-	70,51	61,66	77,22	75,55
EPM ³		0,1723	0,3047	0,3898	0,2037
<i>Probabilidade</i>					
Lipídio		0,3762	0,7550	<0,0001	0,0016
LF		0,8514	0,5495	0,1742	0,5015
AO		0,9347	0,3803	0,1056	0,2365
Lipídio*LF		0,1277	0,3367	0,0158	0,0932
Lipídio*AO		0,1391	0,3362	0,4651	0,0511
LF*AO		0,8296	0,2265	0,1450	0,7146
Lipídio*LF*AO		0,3249	0,2343	0,1819	0,3060

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²Valores expressos na matéria natural. CDMS, coeficiente de digestibilidade da matéria seca (%); CDN, coeficiente de digestibilidade do nitrogênio (%); CDEE, coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (%); CDEBn, coeficiente de digestibilidade da energia bruta corrigida pelo balanço de nitrogênio (%).

³EPM, erro padrão da média.

Gráfico 1 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios no coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (CDEE)

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Desempenho

Os resultados de desempenho dos frangos na fase inicial e no período total de criação são apresentados nas tabelas 4 e 5, respectivamente. Aos 14 dias, não houve interação dos fatores estudados. Foi observado efeito de fonte lipídica para o ganho de peso, que foi maior com a utilização do óleo de soja. O consumo de ração não foi influenciado pelos tratamentos. Já a conversão alimentar foi melhor com a utilização de óleo de soja e em rações com a presença de ácidos orgânicos. Nesse período não foi constatado nenhum efeito resultante da inclusão dos lisofosfolípídios.

Aos 21 dias, o ganho de peso e o consumo de ração foram maiores com a inclusão de óleo de soja. Houve interação na conversão alimentar entre as fontes lipídicas e a inclusão de lisofosfolípídios (Gráfico 2), bem como também foi observada interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos (Gráfico 3). Em ambas as interações pode-se observar que o óleo de soja apresentou melhor conversão alimentar que o sebo bovino, independente da inclusão ou não dos aditivos. Já nas dietas contendo sebo bovino, a conversão alimentar foi melhor com a adição de lisofosfolípídios ou de ácidos orgânicos.

No período total de criação (1 a 42 dias), as aves alimentadas com óleo de soja mantiveram o maior ganho de peso e a melhor conversão alimentar em relação ao sebo bovino, conforme foi observado nas fases iniciais. A inclusão de lisofosfolípídios proporcionou às aves maior ganho de peso, e os ácidos orgânicos, em contrapartida, melhoraram a conversão alimentar. No entanto, observa-se nessa fase que os aditivos apresentaram apenas efeitos principais, não havendo interação entre os fatores. O consumo de

ração, a viabilidade e o índice de eficiência produtiva não foram significativamente alterados pelos tratamentos.

Tabela 4 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho no período de 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade

Efeitos ¹		Desempenho					
		1 a 14 dias			1 a 21 dias		
		GPM ²	CRM	CA	GPM	CRM	CA
Lipídio	OS	418,0	544,8	1,306	924,4	1288,2	1,396
	SB	403,9	541,5	1,341	884,9	1268,4	1,437
LF	com	411,8	542,9	1,324	907,5	1279,4	1,414
	sem	410,1	543,3	1,324	901,7	1277,2	1,419
AO	+	413,8	542,2	1,310	904,6	1271,8	1,410
	-	408,1	544,0	1,337	904,7	1284,8	1,424
EPM ³		2,1693	2,1142	0,0052	4,1455	4,2696	0,0041
<i>Probabilidade</i>							
Lipídio		0,0009	0,4569	0,0003	<0,0001	0,0216	<0,0001
LF		0,6752	0,9209	0,9956	0,4043	0,7979	0,3621
AO		0,1648	0,6857	0,0048	0,9809	0,1244	0,0228
Lipídio*LF		0,2951	0,8574	0,6998	0,3113	0,6686	0,0422
Lipídio*AO		0,6745	0,8042	0,6568	0,5541	0,5909	0,0428
LF*AO		0,3170	0,2263	0,9945	0,7292	0,5569	0,3796
Lipídio*LF*AO		0,9894	0,2739	0,0670	0,7302	0,3922	0,3452

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²GPM, ganho de peso médio (g); CRM, consumo de ração médio (g); CA, conversão alimentar.

³EPM, erro padrão da média.

Gráfico 2 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolipídios na conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 21 dias de idade

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 3 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de ácidos orgânicos na conversão alimentar (CA) de frangos de corte aos 21 dias de idade

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Tabela 5 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho no período de 1 a 42 dias de idade

Efeitos ¹		Desempenho 1 a 42 dias				
		GPM ²	CRM	CA	VIAB ³	FEP
Lipídio	OS	2916,1	4788,8	1,656	96,09	401,2
	SB	2866,8	4742,7	1,671	95,57	390,3
LF	com	2911,8	4770,6	1,660	94,53	393,7
	sem	2871,1	4760,9	1,667	97,13	397,8
AO	+	2901,9	4764,1	1,657	95,05	394,6
	-	2881,0	4767,4	1,670	96,61	396,9
EPM ⁴		10,1287	15,2706	0,0027	0,7188	3,0989
<i>Probabilidade</i>						
Lipídio		0,0133	0,1513	0,0035	0,7507	0,0900
LF		0,0389	0,7609	0,1423	0,0662	0,5209
AO		0,2842	0,9173	0,0156	0,2296	0,7114
Lipídio*LF		0,4674	0,7393	0,8447	0,1004	0,3868
Lipídio*AO		0,4006	0,8928	0,7894	0,1630	0,4931
LF*AO		0,8164	0,7643	0,7157	0,3137	0,7005
Lipídio*LF*AO		0,6288	0,9707	0,4358	0,5715	0,5460

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²GPM, ganho de peso médio (g); CRM, consumo de ração médio (g); CA, conversão alimentar; VIAB, viabilidade (%), FEP, fator de eficiência produtiva (((VIAB × GPM) / CA) / 10)), onde GPM é ganho de peso médio diário (g).

³Variável submetida ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

⁴EPM, erro padrão da média.

Composição e Teor de Ácidos Graxos da Carcaça

A composição da carcaça indica que as fontes lipídicas influenciaram o percentagem corporal de extrato etéreo das aves (Tabela 6). O sebo bovino proporcionou maior percentagem de extrato etéreo às carcaças. Maiores quantidades de água foram incorporadas pelos frangos alimentados com óleo de soja. Houve maior ganho nas relações extrato etéreo/água e extrato etéreo/nitrogênio nas aves que receberam dietas contendo sebo bovino. Os aditivos não apresentaram efeitos significativos na composição das carcaças.

Tabela 6 - Composição da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de milho

Efeitos ¹		Composição ² , %			Decomposição do ganho de peso, g					
		MS ⁴	EE	N	MS	H ₂ O	EE	N	Relações	
									EE/H ₂ O	EE/N
Lipídio	OS	37,96	34,77	9,45	1107,0	1809,9	385,2	104,6	0,2132	3,691
	SB	38,31	36,29	9,29	1097,8	1769,0	398,8	101,8	0,2261	3,928
LF	com	38,10	35,24	9,38	1109,1	1802,7	391,0	103,9	0,2175	3,769
	sem	38,16	35,81	9,36	1095,8	1776,1	392,9	102,5	0,2217	3,850
AO	+	38,13	36,00	9,31	1106,6	1796,1	399,0	102,9	0,2228	3,888
	-	38,13	35,05	9,43	1098,2	1782,8	384,9	103,5	0,2165	3,731
EPM ³		0.1993	0,3066	0,0655	6,1281	9,6167	4,4350	0,7030	0,0030	0,0510
<i>Probabilidade</i>										
Lipídio		0,4030	0,0131	0,2362	0,4685	0,0375	0,1334	0,0528	0,0354	0,0219
LF		0,8780	0,3424	0,9147	0,2972	0,1706	0,8377	0,3191	0,4821	0,4259
AO		0,9898	0,1165	0,3707	0,5091	0,4918	0,1187	0,6309	0,3003	0,1227
Lipídio*LF		0,9034	0,8533	0,9271	0,7501	0,5725	0,9274	0,9462	0,9309	0,9357
Lipídio*AO		0,9459	0,4395	0,6203	0,5785	0,6619	0,3794	0,3312	0,5901	0,8468
LF*AO		0,5908	0,6718	0,5965	0,4935	0,8605	0,5028	0,2376	0,5405	0,9938
Lipídio*LF*AO		0,6299	0,8945	0,9154	0,4709	0,9737	0,6861	0,4423	0,7199	0,9352

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²Valores expressos em 100% de matéria seca. MS, matéria seca; EE, extrato etéreo; N, nitrogênio; H₂O, água.

³EPM, erro padrão da média.

As fontes lipídicas exerceram forte influência sobre todos os ácidos graxos analisados, com exceção dos ácidos eicosatrienóico (C20:3 *cis*-8, 11, 14) e araquidônico (C20:4 *cis*-5, 8, 11, 14) (Tabelas 7 e 8). Foi observada interação tripla das fontes lipídicas com os aditivos sobre a concentração de ácido palmítico (Gráfico 4). A inclusão isolada dos aditivos não provocou resultados diferentes dos obtidos com dietas sem suplementação, no entanto, a associação dos lisofosfolipídios e dos ácidos orgânicos em dietas com óleo de soja diminuiu drasticamente a incorporação do ácido palmítico (saturado), apresentando efeito sinérgico. Os aditivos, isolados ou associados, não alteraram os teores de ácido palmítico provenientes dos tratamentos com sebo bovino. O mesmo comportamento nos dados, só que de maneira inversa, foi observado sobre os ácidos graxos polinsaturados. A combinação dos dois aditivos em dietas com óleo de soja aumentou de forma sinérgica a incorporação dos ácidos gama-linolênico (Gráfico 7), alfa-linolênico (Gráfico 8) e dos ácidos graxos ômega 3 (Gráfico 11).

O ácido linoleico e o resultado da somatória de todos os ácidos graxos ômega 6 revelaram interação das fontes lipídicas com os lisofosfolipídios e dos lisofosfolipídios com os ácidos orgânicos (Gráficos 5, 6, 9 e 10). Em dietas com óleo de soja os lisofosfolipídios aumentaram o conteúdo de ácido linoleico e de ácidos omêga 6 (Gráficos 5 e 9, respectivamente). Nas dietas com sebo bovino, os valores de incorporação desses ácidos graxos foram significativamente mais baixos, não havendo efeito da inclusão dos lisofosfolipídios. A interação dos lisofosfolipídios e dos ácidos orgânicos demonstra que a utilização conjunta de ambos foi superior ao tratamento contendo ácido orgânico isolado (Gráficos 6 e 10).

As relações ômega 6/3 e linoleico/alfa-linolênico foram menores nas dietas com óleo de soja. As ambas relações também foram menores na presença dos lisofosfolipídios, independente da fonte lipídica utilizada.

Tabela 7 - Perfil de ácidos graxos de cadeia média e longa da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de milho

		g / 100 g de ácidos graxos												
Efeitos ¹		C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C17:0	C18:0	C18:1 ²	C18:1	C18:2	C18:2 ²	C18:3	C18:3
			<i>cis</i> -9			<i>cis</i> -9			<i>trans</i> -11	<i>cis</i> -9	<i>cis</i> -9, 12	<i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11	<i>cis</i> -6, 9, 12	<i>cis</i> -9, 12, 15
Lipídio	OS	0,471	0,108	0,081	23,84	4,07	0,134	6,12	0,000	39,14	23,67	0,000	0,078	1,057
	SB	1,099	0,287	0,174	25,49	5,86	0,305	7,39	0,232	44,51	13,00	0,194	0,074	0,447
LF	com	0,775	0,204	0,136	24,24	4,97	0,219	6,61	0,124	41,68	18,92	0,103	0,090	0,809
	sem	0,794	0,192	0,119	25,08	4,97	0,220	6,89	0,108	41,97	17,76	0,092	0,062	0,696
AO	+	0,764	0,195	0,124	24,50	4,99	0,220	6,79	0,117	41,88	18,38	0,097	0,077	0,775
	-	0,806	0,201	0,131	24,82	4,94	0,219	6,71	0,115	41,77	18,30	0,098	0,074	0,730
EPM ³		0,0431	0,0132	0,0082	0,2117	0,1484	0,0119	0,1177	0,0159	0,3959	0,7691	0,0134	0,0054	0,0477
<i>Probabilidade</i>														
Lipídio		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,7166	<0,001
LF		0,5679	0,3755	0,1534	0,0118	0,9933	0,8469	0,1045	0,7720	0,4638	0,0783	0,8410	0,0059	0,0221
AO		0,2204	0,6506	0,5426	0,3377	0,7727	0,9237	0,6303	0,8179	0,7867	0,9088	0,9999	0,7590	0,3461
Lipídio*LF		0,2848	0,1111	0,0567	0,0146	0,2329	0,3466	0,3656	0,6083	0,1250	0,0067	0,6720	0,1865	0,0170
Lipídio*AO		0,7367	0,9715	0,7109	0,4916	0,2272	0,0686	0,9680	0,9941	0,3270	0,2258	0,8236	0,5823	0,1872
LF*AO		0,7620	0,8768	0,9209	0,0173	0,9323	0,2194	0,1650	0,9290	0,2174	0,0392	0,8995	0,2428	0,0186
Lipídio*LF*AO		0,9756	0,8804	0,8039	0,0422	0,3549	0,7696	0,1367	0,8936	0,2296	0,0943	0,9231	0,0195	0,0252

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²Variável submetida ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

³EPM, erro padrão da média.

Tabela 8 - Perfil de ácidos graxos de cadeia muito longa, somatória e relações de ácidos graxos da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de milho

Efeitos ¹		g / 100 g de ácidos graxos								
		C20:0	C20:1	C20:2	C20:3	C20:4	Σ^2		Relações ³	
							<i>cis</i> -11	<i>cis</i> -11, 14	<i>cis</i> -8, 11, 14	<i>cis</i> -5, 8, 11, 14
Lipídio	OS	0,105	0,2831	0,2090	0,109	0,325	24,39	1,067	23,73	23,18
	SB	0,063	0,3058	0,1004	0,100	0,272	13,55	0,447	30,70	29,52
LF	com	0,086	0,2946	0,1613	0,117	0,323	19,61	0,818	26,45	25,59
	sem	0,081	0,2944	0,1481	0,092	0,274	18,33	0,696	27,99	27,11
AO	+	0,082	0,2935	0,1523	0,107	0,294	19,00	0,784	26,76	25,99
	-	0,086	0,2954	0,1571	0,103	0,303	18,94	0,730	27,68	26,71
EPM ⁴		0,0038	0,0030	0,0085	0,0054	0,0162	0,7886	0,0485	0,5821	0,5492
<i>Probabilidade</i>										
Lipídio		<0,001	<0,001	<0,001	0,3840	0,1047	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
LF		0,3872	0,9680	0,2043	0,0235	0,1299	0,0681	0,0124	0,0328	0,0391
AO		0,4634	0,7166	0,6464	0,7116	0,7702	0,9214	0,2511	0,1955	0,3178
Lipídio*LF		0,1119	0,2182	0,4335	0,8609	0,4311	0,0092	0,0093	0,3123	0,5243
Lipídio*AO		0,5476	0,1571	0,9016	0,6854	0,6015	0,2369	0,1267	0,2672	0,3588
LF*AO		0,7361	0,4476	0,7771	0,3678	0,1243	0,0404	0,0103	0,0902	0,1333
Lipídio*LF*AO		0,2693	0,1595	0,6303	0,1104	0,3543	0,0944	0,0143	0,0795	0,1344

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

² Σ , somatória de ácidos graxos das famílias ômega 6 (ω -6) e ômega 3 (ω -3).

³Relações de ácidos das famílias ômega 6/ômega 3 (ω -6/3) e linoleico/alfa-linolênico (Lin/alfa-L)

⁴EPM, erro padrão da média.

Gráfico 4 - Interação tripla sobre a concentração de ácido palmítico (C16:0) na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. Sem, sem aditivos; LF, lisofosfolípidos; AO, ácidos orgânicos. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 7 - Interação tripla sobre a concentração de ácido gama-linolênico (C18:3 *cis*-6, 9, 12) na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. Sem, sem aditivos; LF, lisofosfolípidos; AO, ácidos orgânicos. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 5 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípidos sobre a concentração de ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, 12) na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 8 - Interação tripla sobre a concentração de ácido alfa-linolênico (C18:3 *cis*-9, 12, 15) na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem 5% probabilidade. Sem, sem aditivos; LF, lisofosfolípidos; AO, ácidos orgânicos. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 6 - Interação dos lisofosfolípidos com a inclusão de ácidos orgânicos sobre a concentração de ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, 12) na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. com, presença de lisofosfolípidos; sem, ausência de lisofosfolípidos.

Gráfico 9 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípidos sobre a concentração de ácidos graxos da família ômega 6 na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 10 - Interação dos lisofosfolipídios com a inclusão de ácidos orgânicos sobre a concentração de ácidos graxos da família ômega 6 na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios.

Gráfico 11 - Interação tripla sobre a concentração de ácidos graxos da família ômega 3 na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. Sem, sem aditivos; LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

8 DISCUSSÃO

O maior CDEE observado em dietas com óleo de soja favoreceu consequentemente o CDEBn, demonstrando claramente a superioridade do óleo de soja em relação ao sebo bovino. Piores coeficientes de digestibilidade do sebo bovino em relação ao óleo de soja também foram observados por diversos autores (DÄNICKE et al., 2000; FERREIRA et al., 2005; FASCINA et al., 2009). Muitos são os fatores que influenciam a digestibilidade dos óleos e gorduras. Entre outros, já foi evidenciado que o grau de saturação (LEESON; SUMMERS, 1976), a quantidade de ácidos graxos livres (VILA; ESTEVE-GARCIA, 1996) e a posição do ácido graxo na molécula de triglicerídeo (RENNER; HILL, 1961) influenciam o aproveitamento dos lipídios dietéticos pelas aves.

Os fatores fisiológicos e metabólicos das aves podem também ter influencia sobre a digestão de gorduras, a qual é dependente do processo de emulsificação das moléculas pela ação surfactante dos sais biliares. No entanto, nos estágios iniciais de vida, as aves possuem quantidades insuficientes de sais biliares, prejudicando a formação de micelas. Kussaibati, Guillaume e Leclercq (1982) verificaram aumento na energia metabolizável das dietas suplementadas com sais biliares, principalmente em aves jovens. Adicionalmente, Alzawqari, Kermanshahi e Moghaddam (2010) e Alzawqari et al. (2011) observaram aumento da digestibilidade de gordura saturada em dietas suplementadas com sais biliares. Tais evidências podem justificar a ação dos lisofosfolipídios no CDEE das dietas iniciais com sebo bovino, complementando a ação biliar endógena que parece ter baixa eficácia frente às maiores quantidades de ácidos graxos saturados (KROGDAHL, 1985).

A conversão dos fosfolipídios provenientes da dieta e da bile em lisofosfolipídios por meio da ação enzimática é outra etapa fundamental nos procedimentos digestivos dos lipídios. A ação da enzima fosfolipase na absorção de gordura já foi confirmada em estudos com perus, tendo uma ação acentuada nas primeiras semanas (SANTOS et al., 2004). No entanto, a utilização de fosfolipase na ração acomete certas preocupações relativas à tratamentos térmicos em processos de extrusão e peletização ou então em combinações com outros aditivos como é o caso dos ácidos orgânicos, que podem alterar a faixa ideal de pH da enzima. Já os lisofosfolipídios são moléculas de gordura que possuem maior estabilidade, admitindo o uso em rações sem grandes preocupações com variáveis relativas à temperatura e pH.

Os resultados nos CDEE e no CDEBn estenderam-se ao desempenho dos frangos, corroborando com pesquisas anteriores que observaram melhor desempenho em consonância com maiores coeficientes de digestibilidade em função de fontes lipídicas (DÄNICKE et al., 1997) e de emulsificante (ZHANG et al., 2011). A interação entre as fontes lipídicas e os lisofosfolipídios observada na digestibilidade também foi verificada sobre a conversão alimentar na fase inicial. No período total, porém, as fontes lipídicas e os lisofosfolipídios incrementaram o desempenho de forma independente um do outro, não confirmando as interações. Em decorrência da maior exigência por energia nas fases finais de criação, a presença dos lisofosfolipídios na dieta foi essencial para que os frangos obtivessem maior ganho de peso, independente da fonte lipídica empregada. Zhang et al. (2011) encontraram maiores valores de metabolização aparente de energia em dietas com lisofosfolipídios somente após os 35 dias, ratificando o maior pronunciamento dos lisofosfolipídios sobre a demanda energética ao final da criação. Ainda, a utilização de lisofosfolipídios provenientes do farelo de arroz foi recomendada como fonte de energia para frangos de corte com efeitos benéficos sobre o desempenho e a digestibilidade de gordura (RAJU et al., 2011).

Os ácidos orgânicos incrementaram a conversão alimentar em todos os períodos, apresentando interação com as fontes lipídicas aos 21 dias, beneficiando as dietas contendo sebo. Os ácidos orgânicos agem indiretamente no aproveitamento das gorduras, modulando a microbiota intestinal que é capaz de desconjugar os sais biliares (MAISONNIER et al., 2003), principalmente por *C. perfringens* (KNARREBORG et al., 2002a), causando prejuízo às propriedades emulsificantes dos sais biliares. Em pesquisa prévia foi relatado que o sebo bovino favorece o crescimento de *C. perfringens* na porção ileal das aves em relação à dietas contendo óleo de soja (KNARREBORG et al., 2002b), podendo ser uma possível explicação para os melhores resultados obtidos com os ácidos orgânicos nessas dietas.

A menor eficiência nutricional do sebo bovino em comparação à óleos com grandes teores de ácidos graxos polinsaturados origina maiores quantidades de substratos não aproveitados no lúmen intestinal, que podem causar o crescimento bacteriano indesejado. Diversos trabalhos mostram as vantagens dos ácidos orgânicos em dietas para frangos de corte (ABDEL-FATTAH et al., 2008; PIRGOZLIEV et al., 2008; ADIL et al., 2010), entretanto, parece que esses efeitos são mais acentuados na presença de desafio microbiano (ABBAS et al., 2011).

É importante destacar que a maioria dos estudos já conduzidos que ilustram o impacto da microbiota intestinal sobre a digestibilidade de lipídios em aves utilizam dietas ricas em polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) solúveis (DÄNICKE et al., 1999; KNARREBORG et

al., 2002b; MAISONNIER et al., 2003), que aumentam consideravelmente a viscosidade intestinal favorecendo o crescimento de microrganismos indesejáveis (JIA et al., 2009). No entanto, os resultados aqui apresentados levantam a hipótese que o desenvolvimento microbiológico no lúmen intestinal de frangos alimentados com dietas a base de milho também podem influenciar o aproveitamento de lipídios, principalmente de gorduras saturadas. Os resultados decorrentes dos lisofosfolipídios também podem ser explicados pelo seus efeitos antimicrobianos (COONROD; YONEDA, 1983), porém, nenhuma complementariedade com a associação dos ácidos orgânicos foi observada durante esse estudo. Pouco se sabe sobre as consequências do uso de lisofosfolipídios sobre a microbiota intestinal de frangos de corte, o que sugere maiores investigações.

Os maiores valores de extrato etéreo nas carcaças que receberam sebo bovino em relação ao óleo de soja estão de acordo com pesquisas que avaliaram dietas predominantemente saturadas contra insaturadas (SANZ; FLORES; LOPEZ-BOTE, 2000). Nessa mesma linha, trabalhos demonstram acréscimos significativos no conteúdo de gordura abdominal ou sobre outras partes da carcaça (SANZ, 1999; NEWMAN et al., 2002; FERRINI et al., 2008; WONGSUTHAVAS et al., 2008). Vale destacar que alguns trabalhos evidenciam o acúmulo de gordura em regiões específicas e não na carcaça como um todo (CRESPO; ESTEVE-GARCIA, 2002a,b), sugerindo mais trabalhos aprofundados nesse ponto.

O menor ganho de água em dietas com sebo em relação ao óleo de soja está de acordo com Crespo e Esteve-Garcia (2002b). É possível que a maior quantidade de extrato etéreo corporal dos frangos alimentados com sebo bovino tenha refletido em menor ganho de água nas carcaças, já que há baixa ocorrência de incorporação de água na deposição de tecidos adiposos em relação aos tecidos musculares (proteicos). A maior quantidade de gordura também pode ter exercido efeito sobre as relações extrato etéreo/água e extrato etéreo/nitrogênio. Os resultados sobre a quantidade de gordura podem explicar os maiores resultados obtidos na relação extrato etéreo/água nas carcaças de frangos que consumiram sebo bovino, pois essas carcaças apresentaram maior porcentagem de gordura e consequentemente menor incorporação de água. Pode-se inferir que a maior relação extrato etéreo/nitrogênio foi simplesmente causada pela maior quantidade de extrato nas carcaças provenientes do tratamento com sebo e pela tendência ($P = 0,0527$) do acréscimo de nitrogênio nas carcaças de frangos que consumiram óleo de soja.

O perfil de ácidos graxos da carcaça acompanhou o perfil de ácidos graxos das dietas, confirmando o efeito dos lipídios dietéticos na alteração de ácidos graxos corpóreos em frangos (BADINGA et al., 2003; CORTINAS et al., 2004; VILLAYERDE et al., 2006;

FERRINI et al., 2008; YANG et al., 2010; BAEZA et al., 2013). A combinação dos lisofosfolipídios com os ácidos orgânicos beneficiaram somente as dietas com óleo de soja, decrescendo a deposição de ácidos graxos saturados (ácido palmítico) e aumentando a incorporação de ácidos graxos polinsaturados. Essas interações se destacaram com efeitos sinérgicos, possivelmente relacionadas aos modos de ação complementares entre os lisofosfolipídios e os ácidos orgânicos. Entre as diversas interações físico-químicas da digestão, os ácidos orgânicos podem favorecer o equilíbrio da microbiota intestinal, melhorando as condições de emulsificação dos lipídios. Os lisofosfolipídios, por sua vez, melhorariam a digestão dos lipídios, diminuindo a quantidade de substrato no lúmen intestinal, que evitaria a proliferação de microrganismos indesejados, enriquecendo um ciclo virtuoso que se retroalimenta (SILVA JÚNIOR, 2009).

Relacionando as interações observadas, é possível notar que, os aditivos adicionados de maneira isolada, melhoraram a digestibilidade e a conversão alimentar das dietas com sebo bovino mas não alteraram o perfil de ácidos graxos incorporados, indicando que os aditivos atuaram sobre a gordura do sebo como um todo. Já nas dietas com óleo de soja, a inclusão dos dois aditivos não alteraram a digestibilidade, mas juntos diminuíram a retenção de ácido palmítico (saturado) e favoreceram a incorporação de ácidos graxos polinsaturados, agindo diferentemente sobre os ácidos graxos mas não na quantidade total de lipídios aproveitados.

As relações ômega 6/3 e dos ácidos linoleico/alfa-linolênico não apresentaram interações. As menores relações proporcionadas pelas dietas com óleo de soja sugerem que as relações observadas na carcaça podem ser moduladas pela dieta. Os lisofosfolipídios, independente da fonte lipídica, melhoraram as relações entre os ácidos graxos ômega 6 e 3, indicando que pode ser uma excelente estratégia para produzir carcaças mais saudáveis. A maior incorporação de ácidos graxos ômega 3 na carcaça de frangos tem sido alvo de estudos recentes (BAEZA et al., 2013), sendo que a proposta, dependendo do país, tem sido de uma relação ômega 6/3 em torno de 5 ou 4/1 (MARTIN et al., 2006).

Não houve efeito dos tratamentos sobre o ácido araquidônico, mesmo em dietas com óleo de soja que é rico em ácido linoleico, que pode servir de precursor do ácido araquidônico no metabolismo. Yang et al. (2010) encontrou acréscimo do ácido araquidônico no óleo de soja e de peixe com a suplementação de *C. butyricum*, que é um probiótico produtor de ácido butírico como resultado de seu metabolismo. Apesar da presença de ácido butírico na mistura de ácidos orgânicos avaliada nesta pesquisa, notou-se que a suplementação de ácidos orgânicos diminuiu os valores de ácidos graxos polinsaturados da família ômega 6 do sebo bovino. Frente a larga utilização de aditivos que é praticada na nutrição de frangos de corte,

sugere-se a condução de mais pesquisas que relacionem o emprego de aditivos com os reflexos causados na qualidade da carcaça.

9 CONCLUSÃO

As propriedades das fontes lipídicas em dietas para frangos de corte é de suma importância para uma nutrição adequada. Neste trabalho, confirma-se o efeito superior do óleo de soja em comparação ao sebo bovino, incidindo fortemente na digestibilidade e no desempenho. O óleo de soja também pode melhorar a qualidade da carcaça, proporcionando menor acúmulo de gordura com maior incorporação de ácidos graxos polinsaturados, agregando valor em produtos de origem animal para um consumo humano mais saudável.

Os aditivos apresentam interação com o grau de saturação dos lipídios na fase inicial de criação das aves, melhorando os resultados de digestibilidade e desempenho oriundos de dietas com sebo bovino. No período total de criação os lisofosfolipídios favorecem o ganho de peso e os ácidos orgânicos a conversão alimentar, independente das fontes lipídicas. A inclusão combinada dos dois aditivos age sinergicamente sobre a incorporação de ácidos graxos do óleo de soja, diminuindo o teor de ácido palmítico e aumentando o conteúdo corpóreo de ácidos graxos polinsaturados. Já os lisofosfolipídios, independente das fontes lipídicas, melhoram a relação ômega 6/3 das carcaças.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, R. Z.; MUNAWAR, S. H.; MANZOOR, Z.; IQBAL, Z.; KHAN, M. N.; SALEEMI, M. K.; ZIA, M. A.; YOUSAF, A. Anticoccidial effects of acetic acid on performance and pathogenic parameters in broiler chickens challenged with *Eimeria tenella*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 99-103, 2011.
- ABDEL-FATTAH, S. A.; EL-SANHOORY, M. H.; MEDNAY, N. M.; ABDELAZEEM, F. Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. **International Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 3, p. 215-222, 2008.
- ADIL, S.; BANDAY, T.; BHAT, G.A.; MIR, M.S.; REHMAN, M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, p.1-7, 2010.
- ALZAWQARI, M.; KERMANSHAHI, H.; MOGHADDAM, H. N. The effect of glycine and desiccated ox bile supplementation on performance, fat digestibility, blood chemistry and ileal digesta viscosity of broiler chickens. **Global Veterinaria**, v. 5, n. 3, p. 187-194, 2010.
- ALZAWQARI, M.; MOGHADDAM, H. N.; KERMANSHAHI, H.; RAJI, A. R. The effect of desiccated ox bile supplementation on performance, fat digestibility, gut morphology and blood chemistry of broiler chickens fed tallow diets. **Journal of Applied Animal Research**, v. 39, n. 2, p. 169-174, 2011.
- AURA, A.-M.; FORSSELL, P.; MUSTRANTA, A.; SUORTTI, T.; POUTANEN, K. Enzymatic hydrolysis of oat and soya lecithin: effects on functional properties. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 71, n. 8, p. 887-891, 1994.
- AZMAN, M.A.; CIFTCI, M. Effects of replacing dietary fat with lecithin on broiler chicken zootechnical performance. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 155, p. 445-448, 2004.
- BADINGA, L.; SELBERG, K. T.; DINGES, A. C.; COMER, C. W.; MILES, R. D. Dietary conjugated linoleic acid alters hepatic lipid content and fatty acid composition in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, n. 1, p. 111-116, 2003.
- BAEZA, E.; CHARTRIN, P.; GIGAUD, V.; TAUTY, S.; METEAU, K.; LESSIRE, M.; BERRI, C. Effects of dietary enrichment with n-3 fatty acids on the quality of raw and processed breast meat of high and low growth rate chickens. **British Poultry Science**, v. 54, n. 2, p. 190-198, 2013.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian J. Biochem. Physiol.**, v. 37, n. 8, p.911-917, 1959.
- CABEZAS, D. M.; MADOERY, R.; DIEHL, B. W. K. Emulsifying properties of different modified sunflower lecithins. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, n. 2, p. 355-361, 2012.
- CHRISTIE, W. W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, v. 23, p. 1072-1075, 1982.

COONROD, J. D.; YONEDA, K. Detection and partial characterization of antibacterial factor(s) in alveolar lining material of rats. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 71, n. 1, p. 129-141, 1983.

CORTINAS, L.; VILLAYERDE, C.; GALOBART, J.; BAUCCELLS, M. D.; CODONY, R.; BARROETA, A. C. Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturation level. **Poultry Science**, v. 83, n. 7, p. 1155-1164, 2004.

CRESPO, N.; ESTEVE-GARCIA, E. Dietary polyunsaturated fatty acids decrease fat deposition in separable fat depots but not in the remainder carcass. **Poultry Science**, v. 81, n. 4, p. 512-218, 2002a.

CRESPO, N.; ESTEVE-GARCIA, E. Nutrient and fatty acid deposition in broilers fed different dietary fatty acid profiles. **Poultry Science**, v. 81, n. 10, p. 1533-1542, 2002b.

DÄNICKE, S.; JEROCH, H.; BÖTTCHER, W.; SIMON, O. Interactions between dietary fat type and enzyme supplementation in broiler diets with high pentosan contents: effects on precaecal and total tract digestibility of fatty acids, metabolizability of gross energy, digesta viscosity and weights of small intestine. **Animal Feed Science and Technology**, v. 84, n. 3-4, p. 279-294, 2000.

DÄNICKE, S.; SIMON, O.; JEROCH, H.; BEDFORD, M. Interactions between dietary fat type and xylanase supplementation when rye-based diets are fed to broiler chickens 2. Performance, nutrient digestibility and the fat-soluble vitamin status of livers. **British Poultry Science**, v. 38, n. 5, p. 546-556, 1997.

DÄNICKE, S.; VAHJEN, W.; SIMON, O.; JEROCH, H. Effects of dietary fat type and xylanase supplementation to rye-based broiler diets on selected bacterial groups adhering to the intestinal epithelium, on transit time of feed, and on nutrient digestibility. **Poultry Science**, v. 78, p. 1292-1299, 1999.

FASCINA, V. B.; CARRIJO, A. S.; SOUZA, K. M. R.; GARCIA, A. M. L.; KIEFER, C.; SARTORI, J. R. Soybean oil and beef tallow in starter broiler diets. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 11, n. 4, p. 249-256, 2009.

FEIGHNER, S. D.; DASHKEVICZ, M. P. Subtherapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholytaurine hydrolase activity. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 2, p. 331-336, 1987.

FERREIRA, A. F.; ANDREOTTI, M. O.; CARRIJO, A. S.; SOUZA, K. M. R.; FASCINA, V. B.; RODRIGUES, E. A. Valor nutricional do óleo de soja, do sebo bovino e de suas combinações em rações para frangos de corte. **Acta Scientiarum. Animal Science**, v. 27, n. 2, p. 213-219, 2005.

FERRINI, G.; BAUCCELLS, M. D.; ESTEVE-GARCÍA, E.; BARROETA, A. C. Dietary polyunsaturated fat reduces skin fat as well as abdominal fat in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 87, n. 3, p. 528-535, 2008.

GUERREIRO NETO, A. C.; PEZZATO, A. C.; SARTORI, J. R.; MORI, C.; CRUZ, V. C.; FASCINA, V. B.; PINHEIRO, D. F.; MADEIRA, L. A.; GONÇALVES, J. C. Emulsifier in broiler diets containing different fat sources. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 13, n. 2, p. 119-125, 2011.

- HAUG, A.; EICH-GREATOREX, S.; BERNHOFT A.; WOLD, J. P.; HETLAND, H.; CHRISTOPHERSEN, O. A.; SOGN, T. Effect of dietary selenium and omega-3 fatty acids on muscle composition and quality in broilers. **Lipids in Health and Disease**, v. 6, n. 29, p. 1-9, 2007.
- HUANG, J.; YANG, D.; GAO, S.; WANG, T. Effects of soy-lecithin on lipid metabolism and hepatic expression of lipogenic genes in broiler chickens. **Livestock Science**, v. 118, n. 1-2, p. 53-60, 2008.
- HUANG, J.; YANG, D.; WANG, T. Effects of replacing soy-oil with soy-lecithin on growth performance, nutrient utilization and serum parameters of broilers fed corn-based diets. **Asian – Australian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 12, p. 1880-1886, 2007.
- JIA, W.; SLOMINSKI, B. A.; BRUCE, H. L.; BLANK, G.; CROW, G.; JONES, O. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. **Poultry Science**, v. 88, n. 1, p. 132-140, 2009.
- KNARREBORG, A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, S. K.; JENSEN, B. B. Quantitative determination of bile salt hydrolase activity in bacteria isolated from the small intestine of chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 6425-6428, 2002a.
- KNARREBORG, A.; SIMON, M. A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, B. B.; TANNOCK, G. W. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 5918-5924, 2002b.
- KRAMER, J. K. G.; FELLNER, V.; DUGAN, M. E. R. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v. 32, n. 11, p. 1219-1228, 1997.
- KROGDAHL, A. Digestion and absorption of lipids in poultry. **The Journal of Nutrition**, v. 115, n. 5, p. 675-685, 1985.
- KUSSAIBATI, R.; GUILLAUME, J.; LECLERCQ, B. The effects of age, dietary fat and bile salts, and feeding rate on apparent and true metabolisable energy values in chickens. **British Poultry Science**, v. 23, n. 5, p. 383-403, 1982.
- LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Fat ME values: the effect of fatty acid saturation. **Feedstuffs**, v. 48, p. 26-28, 1976.
- MAISONNIER, S.; GOMEZ, J.; BRÉE, A.; BERRI, C.; BAÉZA, E.; CARRÉ, B. Effects of microflora status, dietary bile salts and guar gum on lipid digestibility, intestinal bile salts, and histomorphology in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, n. 5, p. 805–814, 2003.
- MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.
- MATTERSON, L. D.; POTTER, L. M.; STUTZ, M. W.; SINGSEN, E. P. **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Connecticut: Uniconn Press, 1965. 11 p.

MOGHADASIAN, M. H. Advances in dietary enrichment with n-3 fatty acids. **Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 5, p. 402-410, 2008.

NEWMAN, R. E.; BRYDEN, W. L.; FLECK, E.; ACHES, J. R.; BUTTEMER, W. A.; STORLIEN, L. H.; DOWNING, J. A. Dietary *n*-3 and *n*-6 fatty acids alter avian metabolism: metabolism and abdominal fat deposition. **British Journal of Nutrition**, v. 88, n. 1, p. 11-18, 2002.

PIRGOZLIEV, V.; MURPHY, T. C.; OWENS, B.; GEORGE, J.; McCANN, M. E. E. Fumaric and sorbic acid as additives in broiler feed. **Research in Veterinary Science**, v. 84, n. 3, p. 387-394, 2008.

POLIN, D.; WING, T. L.; KI, P.; PELL, K. E. The effect os bile acids and lipase on absorption of tallow in young chicks. **Poultry Science**, v. 59, n. 12, p. 2738-2743, 1980.

POLYCARPO, G. V.; CRUZ, V. C.; ALEXANDRE, N. C.; FASCINA, V. B.; SOUZA, I. M. G. P.; CRAVO, J. C. M.; ALBUQUERQUE, R.; SARTORI, J. R.; PEZZATO, A. C. Effect os lipid sources and inclusion levels in diets for broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 519-528, 2014.

RAJU, M. V. L. N.; RAMA RAO, S. V.; CHAKRABARTI, P. P.; RAO, B. V. S. K.; PANDA, A. K.; PRABHAVATHI DEVI, B. L. A.; SUJATHA, V.; REDDY, J. R. C.; SHYAM SUNDER, G.; PRASAD, R. B. N. Rice bran lysolecithin as a source of energy in broiler chicken diet. **British Poultry Science**, v. 52, n. 6, p. 769-774, 2011.

RENNER, R.; HILL, F. W. Factors affecting the absorbability of saturated fatty acids in the chick. **The Journal of Nutrition**, v. 74, p. 254-258, 1961.

RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 632-639, 2003.

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**. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252 p.

SANTOS JR, A. A.; FERKET, P. R.; GRIMES, J. L.; EDENS, F. W. Dietary supplementation of endoxylanases and fosfolipase for turkeys fed wheat-based rations. **International Journal of Poultry Science**, v. 3, n. 1, p. 20-32, 2004.

SANZ, M. Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. **British Poultry Science**, v. 40, n. 1, p. 95-101, 1999.

SANZ, M.; FLORES, A.; LOPEZ-BOTE, C. J. The metabolic use of energy from dietary fat in broilers is affected by fatty acid saturation. **British Poultry Science**, v. 41, n. 1, p. 61-68, 2000.

SILVA JÚNIOR, A. Interações químico-fisiológicas entre acidificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolipídios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 238-245, 2009. N. Especial.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 165 p.

SMEDES, F.; THOMASEN, T. K. Evaluation of the Bligh and Dyer lipid determination method. **Marine Pollution Bulletin**, v. 32, n. 8-9, p. 681-688, 1996.

STAFFORD, R. E.; DENNIS, E. A. Lysophospholipids as biosurfactants. **Colloids and Surfaces**, v. 30, n. 1, p. 47-64, 1988.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. (SAS). Institute Inc. **User's Guide**. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc. 2012.

VILA, B.; ESTEVE-GARCIA, E. Studies on acid oils and fatty acids for chickens. II. Effect of free fatty acid content and degree of saturation of free fatty acids and neutral fat on fatty acid digestibility. **British Poultry Science**, v. 37, n. 1, p. 119-130, 1996.

VILLAVERDE, C.; BAUCCELLS, M. D.; CORTINAS, L.; BARROETA, A. C. Effects of dietary concentration and degree of polyunsaturation of dietary fat on endogenous synthesis and deposition of fatty acids in chickens. **British Poultry Science**, v. 47, n. 2, p. 173-179, 2006.

WONGSUTHAVAS, S.; TERAPUNTUWAT, S.; WONGSRIKEAW, W.; KATAWATIN, S.; YUANGKLANG, C.; BEYNEN, A. C. Influence of amount and type of dietary fat on deposition, adipocyte count and iodine number of abdominal fat in broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, n. 1, p. 92-98, 2008.

YANG, X.; ZHANG, B.; GUO, Y.; JIAO, P.; LONG, F. Effects of dietary lipids and *Clostridium butyricum* on fat deposition and meat quality of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 89, n. 2, p. 254-260, 2010.

ZHANG, B.; HAITAO, L.; ZHAO, D.; GUO, Y.; BARRI, A. Effect of fat type and lysophosphatidylcholine addition to broiler diets on performance, apparent digestibility of fatty acids, and apparent metabolizable energy content. **Animal Feed Science and Technology**, v. 163, n. 2, p. 177-184, 2011..

CAPÍTULO III

Efeitos da inclusão de fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos em dietas a base de milho para frangos de corte: 2. Alometria de órgãos do sistema digestório, microbiota jejunal e concentração hepática de vitaminas lipossolúveis A e E

Effects of lipid sources, lysophospholipids and organic acids in corn based diets for broilers: 2. Allometry of organs of the digestive system, jejunal microbiota and liver concentrations of fat-soluble vitamins A and E

10 INTRODUÇÃO

A retirada dos antibióticos de rações para frangos pode causar depressão do desempenho. Os mecanismos pelos quais os antibióticos exercem seus efeitos benéficos não são totalmente claros, mas é sabido que alguns dos principais mecanismos estão relacionados ao aumento da absorção de nutrientes devido à redução da microbiota intestinal (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMERSEEL, 2011). As bactérias intestinais podem modificar o aproveitamento de lipídios por meio da desconjugação dos sais biliares (KNARREBORG et al., 2002a, MAISONNIER et al., 2003) causada pela atividade da colilaurina hidrolase bacteriana (FEIGHNER; DASHKEVICZ, 1987).

No sentido contrário, há evidência de que fontes lipídicas mais saturadas favorecem o crescimento bacteriano indesejado. Knarreborg et al. (2002b) demonstraram que a mistura de fontes de gordura animal mais saturadas que o óleo de soja aumentaram a ocorrência de *C. perfringens* logo aos 14 dias de idade, ao passo que a presença de antimicrobiano diminuiu a ocorrência. Analogamente, a absorção de compostos lipossolúveis, como o retinol e o α -tocoferol, é dependente da emulsificação e consequente digestão de lipídios, sendo absorvidos via complexo micelar.

Os lisofosfolipídios são moléculas surfactantes que podem incrementar a digestão de óleos e gorduras. É possível que os lisofosfolipídios também apresentem efeitos antimicrobianos (COONROD; YONEDA, 1983), porém, até agora não há na literatura evidências dessa ação sobre a microbiota de frangos de corte. Os ácidos orgânicos são aditivos antimicrobianos que podem substituir totalmente ou parcialmente os antibióticos, podendo apresentar uma potencial ação conjunta com os lisofosfolipídios sobre dietas com diferentes fontes lipídicas.

Portanto, o objetivo deste artigo foi avaliar dietas com óleo de soja ou sebo bovino suplementadas ou não com lisofosfolípidios e ácidos orgânicos sobre a alometria de órgãos, microbiologia jejunal e sobre a concentração hepática das vitaminas lipossolúveis A e E em frangos de corte.

11 MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e Dietas Experimentais

O delineamento foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$: duas fontes lipídicas (óleo de soja ou sebo bovino), contendo ou não lisofosfolipídios e ácidos orgânicos. Foram utilizadas oito repetições. As dietas foram as mesmas apresentadas no capítulo II, fornecidas *ad libitum*.

Aves

Foram utilizados 192 pintos de corte com um dia de idade, machos, da linhagem Cobb[®], criados num aviário experimental, em piso, forrado com cama de casca de arroz reutilizada pela segunda vez. Cada tratamento foi composto por 24 aves, divididas em três grupos de oito aves cada. Aos 14 dias de idade, cada grupo foi destinado, respectivamente, à coleta de órgãos para alometria e medição do pH jejunal, às coletas de raspado de conteúdo do jejuno para as análises microbiológicas e à coleta de fígado para mensuração do teor de vitaminas lipossolúveis A e E. Portanto, cada unidade experimental foi representada por uma ave. O programa de luz adotado foi de acordo com o manual da linhagem.

Peso e Comprimento de Órgãos

Os seguintes órgãos foram retirados e pesados: moela, proventrículo, pâncreas, fígado, duodeno, jejuno, íleo e intestino grosso. Antes de serem sacrificadas, as aves foram pesadas para obtenção do peso vivo, a fim de calcular os pesos relativos de órgãos em relação ao peso corporal das aves em jejum. Também foi medido o comprimento dos intestinos com o auxílio de uma fita métrica.

pH e Microbiologia Jejunal

Na determinação do pH foi retirado 1 g de conteúdo intestinal do jejuno para armazenamento em potes plásticos com 30 mL de água destilada. Os frascos foram agitados e na sequência foi feita a leitura em pHmetro de mesa convencional.

Também foram coletadas amostras de raspado do jejuno para realizar as análises microbiológicas. As amostras foram retiradas do jejuno com o auxílio de pequenas espátulas de madeira previamente autoclavadas. As amostras foram imediatamente congeladas sob refrigeração a -20°C , para, posteriormente, serem realizadas análises quanto à presença de

enterobactérias totais; cocos gram positivos e anaeróbios totais, segundo metodologia descrita por Danicke et al. (1999).

Concentração de Vitaminas A e E no Fígado

Foram sacrificadas oito aves por tratamento para a retirada do fígado, que foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido. Posteriormente foram determinadas as concentrações de vitaminas lipossolúveis A e E, detectadas como retinol e α -tocoferol, respectivamente.

O padrões analíticos das vitaminas retinol e α -tocoferol foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Alemanha), com pureza superior a 98,5%, sendo as soluções estoque, concentração de $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, bem como as de trabalho, em concentrações diferenciadas, preparadas em solvente metanol grau HPLC. Todos os solventes utilizados, metanol, etanol, 2-propanol, hexano, foram obtidos da Mallinckrodt (USA), cloreto de sódio da empresa Synth (Brasil) e hidróxido de tolueno butilato da Sigma-Aldrich (Alemanha).

As amostras de fígado foram maceradas, sendo adicionado o solvente etanol saturado com ácido ascórbico juntamente com três mL da solução saturada de NaCl. Após, a mistura foi homogeneizada, acrescentando cinco mL do solvente hexano contendo 2 % de 2-propanol e 0,01 % de BHT (Hidróxido de Tolueno Butilato). Em seguida a mistura foi homogeneizada em vortex por um minuto e centrifugada por cinco minutos a 4.000 rpm. O sobrenadante foi removido (fase orgânica) para um segundo frasco e o processo repetido com a amostra, adicionando novamente cinco mL de solvente hexano. A fase orgânica foi seca com nitrogênio, reconstituída com a fase móvel metanol/água (98%/2%, v/v) e injetada no cromatógrafo líquido.

Os extratos das vitaminas A e E foram analisados por cromatografia líquida com detecção por ultravioleta (LC-UV) e cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas *in tandem* (LC-MS/MS). As condições cromatográficas para o LC-UV: Cromatógrafo da Agilent Série 1.200, coluna Nucleosil Shell RP 18 (100 mm x 4,6 mm x 2,7 μm), fase móvel metanol/água (98%/2%, v/v), com comprimento de onda de 325 nm para a vitamina A e 290 nm para a vitamina E, injetando um volume de 20 μL , fluxo de um mL/min. As condições cromatográficas para o LC-MS/MS: Cromatógrafo da Agilent 1.200 Series, coluna Nucleosil Shell RP 18 (100 mm x 4,6 mm x 2,7 μm), fase móvel água + 0,1 % ácido fórmico e metanol + 0,1 % ácido fórmico (2%/98%, v/v), volume injetado de 10 μL e fluxo de um mL/min. Espectrômetro de massas 3.200 QTRAP (Linear Ion Trap Quadrupole LC/MS/MS Mass Spectrometer), ionização por electrospray, modo positivo. Para a vitamina

A o íon precursor (m/z) e íon fragmento (m/z) foram 269 e 93, 91, 77, e para a vitamina E o íon precursor (m/z) e íon fragmento (m/z) foram 431 e 165, 137, 69, respectivamente.

Análises Estatísticas

A análise dos dados foi realizada com o auxílio do pacote estatístico SAS (2012), com critério de 5% de significância. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento MIXED. Quando necessário, as diferenças entre os tratamentos foram estudadas comparando-se as médias estimadas dos quadrados mínimos (LSMEANS) pelo comando PDIFF (*Compared Pairwise*). O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + c_k + (a \times b)_{ij} + (a \times c)_{ik} + (b \times c)_{jk} + (a \times b \times c)_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde: Y_{ijk} = variável resposta dos frangos alimentados com as fontes lipídicas (i), lisofosfolipídios (j) e ácidos orgânicos (k). μ = efeito geral da média. a_i = efeito fixo das fontes lipídicas. b_j = efeito fixo da suplementação de lisofosfolipídios. c_k = efeito fixo da inclusão de ácidos orgânicos. $(a \times b)_{ij}$ = interação das fontes lipídicas com os lisofosfolipídios. $(a \times c)_{ik}$ = interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos. $(b \times c)_{jk}$ = interação dos lisofosfolipídios com os ácidos orgânicos. $(a \times b \times c)_{ijk}$ = interação tríplice entre as fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos. e_{ijk} = erro termo (resíduo).

Os dados que não apresentaram normalidade de resíduos (teste de Shapiro-Wilk pelo procedimento UNIVARIATE) foram submetidos à transformação logarítmica. Nos casos em que a transformação de dados não foi suficiente para normalizar os resíduos, o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis foi aplicado por meio do procedimento NPAR1WAY.

12 RESULTADOS

Peso e Comprimento de Órgãos

O peso e o comprimento de órgãos são apresentados na tabela 9. O peso do fígado apresentou interação entre as fontes lipídicas e a inclusão de lisofosfolipídios. Em dietas sem inclusão de lisofosfolipídios, o peso do fígado foi maior em dietas contendo óleo de soja (Gráfico 12). A adição de lisofosfolipídios aumentou o peso do fígado em dietas com sebo bovino ao passo que diminuiu o peso do fígado em dietas com óleo de soja, não havendo diferença entre as fontes lipídicas em dietas suplementadas. O peso relativo do intestino grosso e o comprimento do duodeno foram maiores em dietas com óleo de soja.

pH e Microbiologia Jejunal

Na tabela 10 são apresentados os resultados de pH e microbiologia jejunal. Não foi possível demonstrar diferença entre os tratamentos sobre os valores de pH, mesmo em dietas suplementadas com ácidos orgânicos.

Nas condições experimentais deste trabalho, não foi observado crescimento de enterobactérias totais nas amostras de raspado de jejuno, que ficaram abaixo do limiar de detecção. Houve interação entre as fontes lipídicas e a inclusão de lisofosfolipídios sobre cocos gram positivos. Em dietas sem inclusão de lisofosfolipídios, o óleo de soja apresentou menores quantidade de cocos gram positivos (Gráfico 13). No entanto, a presença de lisofosfolipídios foi eficaz em dietas contendo sebo bovino, promovendo os mesmos resultados obtidos nas dietas com óleo de soja e lisofosfolipídios. Os microrganismos anaeróbios totais foram encontrados em menores quantidades em dietas contendo óleo de soja, independente da inclusão de aditivos.

Concentração de Vitaminas A e E no Fígado

Os teores hepáticos de vitaminas A e E não foram influenciados pelos tratamentos (Tabela 11). O contraste entre o perfil lipídico do óleo de soja e do sebo bovino não foram suficientes para alterar significativamente os resultados, mesmo sob a presença ou não dos aditivos.

Tabela 9 - Órgãos do sistema digestório aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho

Efeitos ¹		Peso relativo de órgãos, %								Comprimento de órgãos, cm			
		Moela	Proventrículo	Pâncreas	Fígado	Duodeno	Jejuno	Íleo	Grosso	Duodeno	Jejuno	Íleo	Grosso
Lipídio	OS	5,471	0,748	0,414	3,248	1,802	3,821	3,401	1,379	23,05	49,61	47,44	15,62
	SB	5,495	0,762	0,432	3,195	1,768	3,957	3,430	1,150	21,52	48,44	47,67	15,01
LF	com	5,505	0,749	0,427	3,191	1,754	3,901	3,495	1,268	22,08	48,88	47,99	15,32
	sem	5,461	0,761	0,419	3,253	1,815	3,877	3,337	1,261	22,48	49,17	47,12	15,32
AO	+	5,401	0,766	0,415	3,261	1,777	3,843	3,417	1,232	22,44	49,79	48,85	15,20
	-	5,565	0,744	0,431	3,182	1,792	3,935	3,414	1,296	22,12	48,26	46,26	15,43
EPM ²		0,0712	0,0111	0,0064	0,0534	0,0276	0,0595	0,0645	0,0332	0,3083	0,6528	0,6511	0,2079
<i>Probabilidade</i>													
Lipídio		0,8710	0,5606	0,1650	0,6037	0,5518	0,2595	0,8223	0,0005	0,0139	0,3673	0,8608	0,1592
LF		0,7674	0,6173	0,5165	0,5526	0,2809	0,8375	0,2215	0,9154	0,5141	0,8277	0,5078	0,9942
AO		0,2698	0,3463	0,1919	0,4515	0,7906	0,4432	0,9784	0,3054	0,6036	0,2368	0,0531	0,5954
Lipídio*LF		0,3475	0,2337	0,0590	0,0031	0,1612	0,3428	0,5777	0,8329	0,2666	0,1375	0,8683	0,4899
Lipídio*AO		0,7569	0,3778	0,5406	0,7182	0,9253	0,0919	0,0714	0,8235	0,9548	0,0954	0,2580	0,8214
LF*AO		0,7833	0,7541	0,0708	0,8945	0,3207	0,4407	0,9114	0,2760	0,2891	0,9730	0,9887	0,3956
Lipídio*LF*AO		0,2528	0,3463	0,4276	0,6243	0,6757	0,3254	0,0946	0,4100	0,9058	0,2258	0,5960	0,7104

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²EPM, erro padrão da média.

Gráfico 12 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípídios no peso relativo do fígado (%) de frangos de corte aos 14 dias de idade

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Tabela 10 - pH e microbiologia jejunal aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho

Efeitos ¹		pH	Microbiologia, UFC/g ²	
			Cocos gram +	Anaeróbios totais
Lipídio	OS	6,612	4,205	7,215
	SB	6,613	6,118	8,483
LF	com	6,624	4,820	7,819
	sem	6,602	5,502	7,879
AO	+	6,599	4,730	7,701
	-	6,626	5,592	7,997
EPM ³		0,0080	0,4016	0,1877
<i>Probabilidade</i>				
Lipídio		0,9201	0,0145	0,0006
LF		0,1662	0,3718	0,8632
AO		0,0925	0,2600	0,3978
Lipídio*LF		0,9291	0,0443	0,1829
Lipídio*AO		0,4279	0,9437	0,9464
LF*AO		0,1295	0,6060	0,3133
Lipídio*LF*AO		0,1395	0,1848	0,1395

¹LF, lisofosfolípídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolípídios; sem, ausência de lisofosfolípídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²UFC/g, unidades formadoras de colônias por g de amostra. Dados submetidos à transformação logarítmica.

³EPM, erro padrão da média.

Gráfico 13 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolípidios na contagem de cocos gram positivos (UFC/g)²

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas na linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

²UFC/g, unidades formadoras de colônia por g de amostra. Dados submetidos à transformação logarítmica.

Tabela 11 - Concentração hepática de vitaminas lipossolúveis A e E aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de milho

Efeitos ¹		Vitaminas			
		A		E	
		mg/kg ²	mg ³	mg/kg ²	mg ³
Lipídio	OS	2,071	0,152	0,944	0,030
	SB	2,088	0,130	0,838	0,022
LF	com	2,009	0,140	0,838	0,025
	sem	2,149	0,141	0,944	0,026
AO	+	2,225	0,180	0,821	0,023
	-	1,933	0,102	0,962	0,029
EPM ⁴		0,1302	0,0219	0,0638	0,0039
<i>Probabilidade</i>					
Lipídio		0,9519	0,9398	0,4200	0,2093
LF		0,6156	0,4499	0,4218	0,5637
AO		0,2968	0,3306	0,2875	0,4725
Lipídio*LF		0,8250	0,7434	0,4590	0,4401
Lipídio*AO		0,4815	0,7917	0,8254	0,3404
LF*AO		0,5324	0,7724	0,9711	0,3865
Lipídio*LF*AO		0,2949	0,2716	0,4167	0,9251

¹LF, lisofosfolípidios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolípidios; sem, ausência de lisofosfolípidios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²Dados submetidos à transformação logarítmica.

³Variáveis submetidas ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Valores apresentados em mg de vitamina por fígado.

⁴EPM, erro padrão da média.

13 DISCUSSÃO

O maior peso de fígado, encontrado em dietas com óleo de soja sem suplementação de lisofosfolipídios, pode ser explicado pela maior digestibilidade e aproveitamento dos constituintes lipídicos proporcionado pelo óleo em relação ao sebo. O fígado possui ampla atuação no metabolismo lipídico (NGUYEN et al., 2008). Uma de suas funções é a hidrólise dos triglicerídeos provenientes dos quilomícrons em ácidos graxos livres e glicerol, destinando os ácidos graxos para o metabolismo energético ou ao retículo endoplasmático rugoso para serem conjugados com proteínas e exportados para outros órgãos. É possível que a ação hepática sobre maiores quantidades de lipídios advindos da dieta possa ter acentuado seu peso. Qureshi et al. (1980) mostraram que o peso do fígado diminuiu em dietas compostas por cereais de alta viscosidade em relação ao milho, observando também decréscimos no colesterol hepático e plasmático. Dietas ricas em cereais de alta viscosidade diminuem a absorção intestinal de lipídios (MATHLOUTHI et al., 2002), levantando a hipótese que um baixo aporte nutricional de lipídios leva ao decréscimo do peso do fígado. Dänicke et al. (1999) encontraram maior peso de fígado em dietas com óleo de soja em comparação ao sebo bovino em dietas a base de centeio.

Além da quantidade de lipídios que é assimilada pelo organismo, a qualidade dos lipídios, no que diz respeito ao perfil dos ácidos graxos, também pode influenciar o metabolismo lipídico do fígado. Sanz, Flores e Lopez-Bote (2000) observaram aumento na β -oxidação e redução na síntese hepática de ácidos graxos em decorrência de maiores quantidades de ácidos graxos insaturados. A suplementação de lisofosfolipídios em dietas com óleo de soja pode ter levado à maior incorporação de ácidos graxos insaturados e polinsaturados no fígado, que por sua vez pode ter levado ao decréscimo da síntese hepática de ácidos graxos, diminuindo o metabolismo e consequentemente o peso do fígado. Em complemento, diferentes taxas nos níveis dietéticos de ácido linolênico e linoleico causaram alterações no tecido hepático de ratos (MOHRHAUER; HOLMAN, 1963).

O maior comprimento de duodeno e peso de intestino grosso em dietas com óleo de soja é uma resposta fisiológica que pode estar associada ao maior crescimento dos frangos alimentados com essas dietas. O duodeno é um segmento intestinal com grande importância na digestão de lipídios, onde as enzimas pancreáticas são liberadas juntamente com os sais biliares (CAPLE; HALPIN; HEATH, 1978; BAUER; JAKOB; MOSENTHIN, 2005). A

maior digestibilidade do óleo de soja pode ter estimulado a liberação de lipase e sais biliares, levando ao maior desenvolvimento dessa porção.

Os resultados microbiológicos do jejuno indicam que os lisofosfolipídios foram eficazes em dietas contendo sebo bovino, minimizando o impacto negativo do sebo na contagem de cocos gram positivos. Esses resultados destacam o efeito antibacteriano dos lisofosfolipídios sobre a microbiota intestinal de frangos. A ação antimicrobiana dos lisofosfolipídios pode ter ocorrido de duas maneiras. Os lisofosfolipídios podem ter atuado diretamente sobre os microrganismos gram positivos, alterando a permeabilidade da membrana celular provocando danos na integridade da bactéria por meio de desequilíbrio iônico (COONROD; YONEDA, 1983; SILVA JÚNIOR, 2009). A segunda causa estaria relacionada com o melhor aproveitamento do sebo bovino causado pelos lisofosfolipídios, gerando menores quantidades de substrato no lúmen intestinal. A ação antimicrobiana dos lisofosfolipídios pode contribuir com a redução da quantidade de metabólitos depressores de desempenho produzidos pelas bactérias gram positivas, que é um dentre os fatores benéficos que são atribuídos ao uso de antibióticos (FEIGHNER; DASHKEVICZ, 1987; HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMERSEEL, 2011). Silva Júnior (2009) cita que, em decorrência da ação antimicrobiana e dos efeitos sobre a digestibilidade dos lipídios, o uso de lisofosfolipídios pode ocasionar menos nutrientes disponíveis no lúmen intestinal, preservando a integridade dos sais biliares, que por sua vez irá contribuir na digestão dos lipídios.

As dietas com óleo de soja proporcionaram menores quantidades de microrganismos anaeróbios totais no jejuno. A quantidade natural de sais biliares e enzimas envolvidas nos processos de digestão dos lipídios em aves pode não ser suficiente para emulsificar com eficiência os ácidos graxos do sebo bovino, que apresentam grandes porções totalmente saturadas. Condições impeditivas na emulsificação prejudicam a formação de micelas, ocasionando baixo aproveitamento dos nutrientes lipídicos (KROGDAHL, 1985). A relação entre a baixa digestibilidade de gorduras saturadas com a microbiota intestinal foi reportada em trabalhos por Dänicke et al. (1997, 1999). Knarreborg et al. (2002b) confirmaram o aumento do crescimento bacteriano indesejado em função de maiores quantidades de ácidos saturados na dieta. A maior quantidade de microrganismos pode causar danos nas microvilosidades intestinais (GUNAL et al., 2006) e prejudicar a integridade dos sais biliares pela ação da colilaurina hidrolase bacteriana (KNARREBORG et al., 2002a) incidindo no aproveitamento de compostos lipossolúveis (KNARREBORG et al., 2004). Maisonnier et al. (2003) também evidenciaram a perda de sais biliares ocasionada pela microbiota intestinal.

A liberação de sais biliares no duodeno é dependente do processo de recirculação dos sais biliares (CAPLE; HALPIN; HEATH, 1978). A ação da microbiota em dietas contendo sebo pode ter ocasionado a perda de sais biliares por meio da desconjugação das moléculas com consequente ação sobre o peso do fígado, importante órgão na recirculação da bile. Os sais biliares possuem efeito bacteriostático, que pode levar à seleção e a inibição do crescimento de alguns microrganismos (JIN et al., 1998), agravando ainda mais a proliferação indesejada da microbiota em dietas com sebo bovino.

Os ácidos orgânicos não alteraram os resultados avaliados neste trabalho. A concentração e o potencial de acidificação dos ácidos orgânicos acontece principalmente nos órgãos proximais do trato gastrointestinal, sendo completamente removido da ingesta como resultado dos processos de metabolização e absorção antes de atingir o divertículo de Meckel (BOLTON; DEWAR, 1964). É importante mencionar que efeitos conferidos pelos ácidos orgânicos nos órgãos distais do trato gastrointestinal pode ser devido ao controle bacteriano patogênico nas partes superiores, apesar desse mecanismo compensatório ainda não apresentar comprovação científica (ADIL et al., 2010). No entanto, nesta pesquisa não foi possível demonstrar resultado dos ácidos orgânicos no pH e na microbiota jejunal.

É sabido que o declínio no aproveitamento de lipídios incide na absorção de componentes lipossolúveis da dieta, prejudicando a absorção de vitaminas lipossolúveis, que são dependentes do processo de emulsificação para serem absorvidas via complexo micelar. Contudo, neste experimento não foi possível confirmar este fato. Knarreborg et al. (2004) observaram que a biodisponibilidade da molécula de tocoferol depende de boas condições de emulsão e formação de micelas no lúmen intestinal, acrescentando que condições favoráveis ao crescimento indesejado de atividade bacteriana causam efeitos negativos. Dänicke et al. (1997) observaram maior concentração de vitamina A no fígado de aves alimentadas com maior teor de ácidos graxos polinsaturados provenientes do óleo de soja em relação ao sebo bovino. No entanto, os melhores resultados das referenciadas pesquisas foram apurados utilizando dietas ricas em pentosanas solúveis, que aumentam drasticamente a viscosidade intestinal, aumentando o contraste existente na digestão de óleos e gorduras.

É válido ressaltar que em dietas a base de milho existem poucas informações a respeito da influencia do perfil lipídico dietético sobre as variáveis aqui analisadas. A carência de estudos com cereais de baixa viscosidade se deve, provavelmente, às condições menos dramáticas na digestão dos lipídios e menos favoráveis ao crescimento microbiano no intestino. Todavia, os resultados desta pesquisa geram bons indícios de que a modulação nutricional das fontes lipídicas e a suplementação de lisofosfolipídios são vitais nas respostas

físicas do sistema digestório, bem como na população microbiana jejunal de frangos alimentados com dietas a base de milho e farelo de soja.

14 CONCLUSÃO

O peso do fígado é maior em dietas com óleo de soja sem suplementação. A presença de lisofosfolipídios diminui o peso do fígado em dietas com óleo de soja e aumentam o peso do fígado em dietas contendo sebo bovino. As maiores quantidades de ácidos graxos polinsaturados do óleo de soja beneficiam o desenvolvimento intestinal do duodeno e do intestino grosso.

O sebo bovino aumenta o crescimento microbiano no jejuno de frangos de corte. Os lisofosfolipídios diminuem o impacto gerado pelo sebo bovino sobre cocos gram positivos, podendo representar uma alternativa para contornar a questão sobre a retirada de antibióticos de rações animais.

Nas condições experimentais apresentadas, os ácidos orgânicos isolados ou associados aos lisofosfolipídios não apresentam resultados significativos. Não foi possível observar influência dos tratamentos sobre teores hepáticos das vitaminas A e E.

REFERÊNCIAS

- ADIL, S.; BANDAY, T.; BHAT, G. A.; MIR, M. S.; REHMAN, M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, p.1-7, 2010.
- BAUER, E.; JAKOB, S.; MOSENTHIN, E. Principles of physiology of lipid digestion. **Asian-australasian journal of animal sciences**, v. 18, n. 2, p. 282-295, 2005.
- BOLTON, W.; DEWAR, W. A. The digestibility of acetic, propionic and butyric acids by the fowl. **British Poultry Science**, v. 6, n. 2, p. 103-105, 1965.
- CAPLE, I. W.; HALPIN, C. G.; HEATH, T. Bile and pancreatic secretion in chickens: the effects of bile salts, feeding and acid. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 61, n. 4, p. 653-659, 1978.
- COONROD, J. D.; YONEDA, K. Detection and partial characterization of antibacterial factor(s) in alveolar lining material of rats. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 71, n. 1, p. 129-141, 1983.
- DÄNICKE, S.; SIMON, O.; JEROCH, H.; BEDFORD, M. Interactions between dietary fat type and xylanase supplementation when rye-based diets are fed to broiler chickens 2. Performance, nutrient digestibility and the fat-soluble vitamin status of livers. **British Poultry Science**, v. 38, n. 5, p. 546-556, 1997.
- DÄNICKE, S.; VAHJEN, W.; SIMON, O.; JEROCH, H. Effects of dietary fat type and xylanase supplementation to rye-based broiler diets on selected bacterial groups adhering to the intestinal epithelium, on transit time of feed, and on nutrient digestibility. **Poultry Science**, v. 78, p. 1292-1299, 1999.
- FEIGHNER, S. D.; DASHKEVICZ, M. P. Subtherapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholytaurine hydrolase activity. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 2, p. 331-336, 1987.
- GUNAL, M.; YAYLI, G.; KAYA, O.; NARAHAN, N.; SULAK, O. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. **International Journal of Poultry Science**, n. 5, v. 2, p. 149-155, 2006.
- HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. V. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 182-188, 2011.
- JIN, L. Z.; HO, Y. W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Acid and bile tolerance of *Lactobacillus* isolated from chicken intestine. **Letters in Applied Microbiology**, v. 27, n. 3, p. 183-185, 1998.
- KNARREBORG, A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, S. K.; JENSEN, B. B. Quantitative determination of bile salt hydrolase activity in bacteria isolated from the small intestine of chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 6425-6428, 2002a.

- KNARREBORG, A.; LAURIDSEN, A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, A. K. Dietary antibiotic growth promoters enhance the bioavailability of α -tocopheryl acetate in broilers by altering lipid absorption. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 6, p. 1487-1492, 2004.
- KNARREBORG, A.; SIMON, M. A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, B. B.; TANNOCK, G. W. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 5918-5924, 2002b.
- KROGDAHL, A. Digestion and absorption of lipids in poultry. **The Journal of Nutrition**, v. 115, n. 5, p. 675-685, 1985.
- MAISONNIER, S.; GOMEZ, J.; BRÉE, A.; BERRI, C.; BAÉZA, E.; CARRÉ, B. Effects of microflora status, dietary bile salts and guar gum on lipid digestibility, intestinal bile salts, and histomorphology in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, n. 5, p. 805-814, 2003.
- MATHLOUTHI, N.; LALLÈS, J. P.; LEPERCQ, P.; JUSTE, C.; LARBIER, M. Xylanase and β -glucanase supplementation improve conjugated bile acid fraction in intestinal contents and increase villus size of small intestine wall in broiler chickens fed a rye-based diet. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 11, p. 2773-2779, 2002.
- MOHRHAUER, H.; HOLMAN, R. Effect of linolenic acid upon the metabolism of linoleic acid. **The Journal of Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 67-74, 1963.
- NGUYEN, P.; LERAY, V.; DIEZ, M.; SERISIER, S.; LE BLOC'H, J.; SILIART, B.; DUMON, H. Liver lipid metabolism. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, n. 3, p. 272-283, 2008.
- QURESHI, A. A.; BURGER, W. C.; PRENTICE, N.; BIRD, H. R.; SUNDE, M. L. Regulation of lipid metabolism in chicken liver by dietary cereals. **The Journal of Nutrition**, v. 110, n. 3, p. 388-393, 1980.
- SANZ, M.; LOPEZ-BOTE, C. J.; MENOYO, D.; BAUTISTA, J. M. Abdominal fat deposition and fatty acid synthesis are lower and β -oxidation is higher in broiler chickens fed diets containing unsaturated rather than saturated fat. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 12, p. 3034-3037, 2000.
- SILVA JÚNIOR, A. Interações químico-fisiológicas entre acidificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolípidios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p.238-245, 2009. N. Especial.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. (SAS). Institute Inc. **User's Guide**. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc. 2012.

CAPÍTULO IV

Efeitos da inclusão de fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos sobre a digestibilidade de nutrientes, desempenho e composição e teor de ácidos graxos da carcaça de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo

Effect of lipid sources, lysophospholipids and organic acids on the nutrient digestibility, performance and carcass composition and fatty acid content of broiler fed wheat-based diets

15 INTRODUÇÃO

Diversas pesquisas com frangos de corte apontaram que altas quantidades de polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) solúveis na dieta prejudicam o aproveitamento de lipídios (MAISONNIER; GOMEZ; CARRÉ, 2001), principalmente de gorduras com altas quantidades de ácidos graxos saturados (DÄNCKE et al., 1997, 2000). Apesar do trigo apresentar quantidades menores de PNAs que outros cereais de inverno, como o centeio e a cevada, foi demonstrado que a hidrólise dos PNAs de rações contendo trigo amenizou o impacto acentuado dos PNAs sobre o aproveitamento do extrato etéreo do sebo (MENG; SLOMINSKI; GUENTER, 2004).

Maisonnier et al. (2003) destacaram que a viscosidade intestinal acentuada pode prejudicar a digestão de lipídios, possivelmente pela redução na reabsorção de sais biliares no intestino. Outra ação está relacionada à proliferação indesejada da microbiota intestinal que pode ser causada pelo aumento da viscosidade, gerando perdas de sais biliares (KNARREBORG et al., 2002). Essas considerações levam a presumir que aditivos emulsificantes e antimicrobianos poderiam interagir com diferentes fontes lipídicas e assim beneficiar características de interesse zootécnico ligadas à digestibilidade das dietas, ao desempenho das aves e à qualidade da carcaça.

Portanto, este estudo foi conduzido para avaliar os efeitos de dietas a base de trigo contendo diferentes fontes lipídicas suplementadas ou não com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos sobre o metabolismo de nutrientes, desempenho e sobre a composição e o teor de ácidos graxos da carcaça.

16 MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e Dietas Experimentais

O delineamento foi inteiramente casualizado com os tratamentos organizados em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$, sendo duas fontes lipídicas (óleo de soja ou sebo bovino), contendo ou não lisofosfolipídios e ácidos orgânicos, com oito repetições. As dietas foram compostas a base de trigo e farelo de soja, formuladas com níveis isoenergéticos e isoaminoacídicos, de acordo com os valores preconizados por Rostagno et al. (2011) (Tabela 12). Para compensar o maior valor energético do óleo de soja, foi previamente calculada a quantidade exata de amido incluída em substituição ao caulim (material inerte) nas dietas contendo sebo bovino, a fim de ajustar o valor energético entre as dietas com diferentes fontes lipídicas. Os aditivos foram incluídos *on top* em substituição ao material inerte de acordo com cada tratamento. Os lisofosfolipídios foram compostos principalmente por lisolecitinas, que são substâncias emulsificantes produzidas a partir do enriquecimento enzimático da lecitina de soja pela atividade da enzima fosfolipase A₂, produzindo, principalmente, lisofosfatidilcolina. O *pool* de ácidos orgânicos foi composto pelo ácido láctico (40%), acético (7%) e butírico (1%). Antibióticos e coccidiostáticos foram omitidos das dietas para não interferir com os aditivos propostos. Água e ração foram fornecidas *ad libitum*.

A composição calculada de ácidos graxos das dietas foi realizada a partir da análise das fontes lipídicas e das frações gordurosas dos ingredientes (Tabela 13). O perfil de ácidos graxos foi determinado pelo método de extração de Bligh e Dyer (1959); Christie (1982) e Smedes e Thomasen (1996). A gordura separada foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com Kramer, Fellner e Dugan (1997). Dois padrões internos C18:0 e C19:0 (Sigma Aldrich®) foram utilizados para corrigir as perdas durante o processo de metilação. Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimadzu 2010, com injeção automática), usando coluna capilar SP-2560 (100 m $\times$ 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 70°C por 4 minutos (13°C minuto⁻¹) até chegar a 175°C, mantendo por 27 minutos. Depois, um novo aumento de 4°C minuto⁻¹ foi iniciado até 215°C, mantendo por 31 minutos. O hidrogênio (H₂) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 40 cm s⁻¹. Durante o processo de identificação foram utilizados quatro padrões: standard C4-24 de ácidos graxos (Supelco® TM 37), ácido vacênico C18:1 *trans*-11 (V038-1G, Sigma®), C18 CLA: *trans*-10, *cis*-12 (UC-61M 100 mg), C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (UC-60M 100 83 mg), (NU-CHEK-PREP EUA®).

Tabela 12 - Composição e valores calculados das dietas experimentais a base de trigo e farelo de soja

Ingredientes (%)	Dietas ¹							
	1 – 7 dias		8 – 21 dias		22 – 33 dias		34 – 42 dias	
	OS	SB	OS	SB	OS	SB	OS	SB
Trigo grão moído	54,41		59,21		62,18		65,86	
Farelo de soja 45	31,09		27,12		23,63		20,57	
Glúten milho 60	1,088		0,131		0,649		0,294	
Óleo de soja	5,500	-	6,000	-	6,500	-	6,750	-
Sebo bovino	-	5,500	-	6,000	-	6,500	-	6,750
Amido	-	2,165	-	2,362	-	2,559	-	2,658
Sal comum	0,350		0,350		0,350		0,350	
Bicarbonato Na	0,257		0,221		0,185		0,168	
Fosfato bicálcico	1,773		1,351		1,144		0,843	
Calcário calcítico	1,017		1,152		1,013		0,958	
L-lisina	0,433		0,348		0,322		0,316	
DL-metionina	0,332		0,260		0,216		0,186	
Treonina	0,179		0,139		0,111		0,106	
Valina	0,107		0,063		0,040		0,033	
Lisofosfolipídios	0,100		0,100		0,100		0,100	
Ácidos orgânicos	0,800		0,800		0,600		0,400	
Caulim	2,165	-	2,362	-	2,559	-	2,658	-
Premix vit/min ²	0,400		0,400		0,400		0,400	
Total	100,0		100,0		100,0		100,0	
Valores Calculados								
EMAn, kcal/kg	2,925		2,980		3,050		3,100	
PB, %	22,00		20,00		19,00		17,80	
EE, %	6,94		7,43		7,93		8,18	
Fibra bruta, %	2,949		2,842		2,733		2,655	
Cálcio, %	0,920		0,860		0,750		0,650	
Fósforo dig, %	0,395		0,337		0,307		0,266	
Lisina dig, %	1,304		1,141		1,045		0,969	
Met+Cis dig, %	0,939		0,822		0,763		0,707	
Treonina dig, %	0,848		0,742		0,679		0,630	
Triptofano dig, %	0,254		0,235		0,220		0,206	
Valina dig, %	1,004		0,879		0,815		0,756	
Sódio, %	0,220		0,210		0,200		0,195	
Ác linoleico, %	3,551	0,829	3,800	0,830	4,058	0,841	4,183	0,842

¹OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.²Suplemento vitamínico e mineral para frangos de corte na fase pré-inicial (níveis por kg de produto):

Vitamina A (mínimo) 2.000.000,00 U.I/kg; Vitamina D3 (mínimo) 600.000,00 U.I/kg; Vitamina E (mínimo) 3.000,00 U.I/kg; Vitamina K3 (mínimo) 500,00 mg/kg; Vitamina B1 (mínimo) 600,00 mg/kg; Vitamina B2 (mínimo) 1.500,00 mg/kg; Vitamina B6 (mínimo) 1.000,00 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo) 3.500,00 mcg/kg; Niacina (mínimo) 10,00 g/kg; Ácido Pantotênico (mínimo) 3.750,00 mg/kg; Ácido Fólico (mínimo) 250,00 mg/kg; Colina (mínimo) 86,60 g/kg; Ferro (mínimo) 12,50 g/kg; Manganês (mínimo) 17,50 g/kg; Zinco (mínimo) 12,50 g/kg; Cobre (mínimo) 25,00 g/kg; Iodo (mínimo) 300,00 mg/kg; Selênio (mínimo) 50,00 mg/kg.

Suplemento vitamínico e mineral para frangos de corte na fase inicial (níveis por kg de produto): Vitamina A (mínimo) 1.750.000,00 U.I/kg; Vitamina D3 (mínimo) 550.000,00 U.I/kg; Vitamina E (mínimo) 2.750,00 U.I/kg; Vitamina K3 (mínimo) 400,00 mg/kg; Vitamina B1 (mínimo) 500,00 mg/kg; Vitamina B2 (mínimo) 1.250,00 mg/kg; Vitamina B6 (mínimo) 750,00 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo) 3.000,00 mcg/kg; Niacina (mínimo) 8.750,00 mg/kg; Ácido Pantotênico (mínimo) 3.250,00 mg/kg; Ácido Fólico (mínimo) 200,00 mg/kg; Colina (mínimo) 82,00 g/kg; Ferro (mínimo) 12,50 mg/kg; Manganês (mínimo) 17,50 g/kg; Zinco (mínimo) 12,50 g/kg; Cobre (mínimo) 25,00 g/kg; Iodo (mínimo) 300,00 mg/kg; Selênio (mínimo) 50,00 mg/kg.

Suplemento vitamínico e mineral para frangos de corte na fase de crescimento (níveis por kg de produto): Vitamina A (mín.) 1.500.000,00 U.I/kg; Vitamina D3 (mín.) 500.000,00 U.I/kg; Vitamina E (mín.) 2.500,00 U.I/kg; Vitamina K3 (mín.) 400,00 mg/kg; Vitamina B1 (mín.) 350,00 mg/kg; Vitamina B2 (mín.) 1.000,00 mg/kg; Vitamina B6 (mín.) 500,00 mg/kg; Vitamina B12 (mín.) 2.500,00 mcg/kg; Niacina (mín.) 7.500,00 mg/kg; Ácido Pantotênico (mín.) 2.750,00 mg/kg; Ácido Fólico (mín.) 150,00 mg/kg; Colina (mín.) 60,40 g/kg; Cobre (mín.) 25,00 g/kg; Ferro (mín.) 12,50 g/kg; Manganês (mín.) 17,50 g/kg; Zinco (mín.) 12,50 g/kg; Iodo (mín.) 300,00 mg/kg; Selênio (mín.) 50,00 mg/kg.

Suplemento vitamínico e mineral para frangos de corte na fase final (níveis por kg de produto): Vitamina A (mínimo) 1.250.000 U.I/kg; Vitamina D3 (mínimo) 250.000 U.I/kg; Vitamina E (mínimo) 2.000 U.I/kg; Vitamina K3 (mínimo) 400 mg/kg; Vitamina B2 (mínimo) 500 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo) 1.250 mcg/kg; Niacina (mínimo) 5.000 mg/kg; Ácido Pantotênico (mínimo) 2.250 mg/kg; Colina (mínimo) 31,900 g/kg; Ferro (mínimo) 12,500 g/kg; Manganês (mínimo) 17,500 g/kg; Zinco (mínimo) 12,500 g/kg; Cobre (mínimo) 2.000 mg/kg; Iodo (mínimo) 300,000 mg/kg; Selênio (mínimo) 50,000 mg/kg.

Tabela 13 - Perfil de ácidos graxos de dietas a base de trigo e farelo de soja

g / 100g de ácidos graxos	Dietas ¹							
	1 – 7 dias		8 – 21 dias		22 – 33 dias		34 – 42 dias	
	OS	SB	OS	SB	OS	SB	OS	SB
C10:0	-	0,05	-	0,05	-	0,05	-	0,05
C12:0	-	0,12	-	0,13	-	0,13	-	0,13
C14:0	0,11	2,21	0,11	2,25	0,11	2,28	0,11	2,29
C14:1 <i>cis</i> -9	-	0,51	-	0,52	-	0,52	-	0,53
C15:0	-	0,42	-	0,43	-	0,44	-	0,44
C16:0	12,30	22,68	12,23	22,81	12,16	22,89	12,14	22,94
C16:1 <i>cis</i> -9	0,18	2,50	0,17	2,54	0,16	2,57	0,16	2,58
C17:0	0,07	0,85	0,07	0,86	0,07	0,87	0,07	0,88
C18:0	3,07	13,73	3,06	13,92	3,05	14,07	3,03	14,13
C18:1 <i>trans</i> -9	-	0,16	-	0,17	-	0,17	-	0,17
C18:1 <i>trans</i> -11	-	2,02	-	2,06	-	2,09	-	2,10
C18:1 <i>cis</i> -9	21,01	37,39	21,02	37,72	21,09	38,04	21,09	38,16
C18:2 <i>cis</i> -9, 12	56,83	14,82	56,92	14,11	56,95	13,50	57,00	13,26
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	-	0,47	-	0,48	-	0,49	-	0,49
C18:3 <i>cis</i> -9, 12, 15	5,65	1,41	5,64	1,33	5,63	1,25	5,62	1,21
C20:0	0,26	0,13	0,26	0,13	0,26	0,13	0,26	0,13
C20:1 <i>cis</i> -11	0,09	0,26	0,09	0,27	0,09	0,27	0,09	0,27
C20:2 <i>cis</i> -11, 14	0,03	0,06	0,03	0,06	0,03	0,06	0,03	0,06
C20:3 <i>cis</i> -8, 11, 14	-	0,03	-	0,04	-	0,04	-	0,04
C20:4 <i>cis</i> -5, 8, 11, 14	-	0,06	-	0,06	-	0,06	-	0,06
C21:0	0,02	0,05	0,02	0,05	0,03	0,05	0,03	0,05
C22:0	0,35	0,04	0,35	0,04	0,35	0,03	0,35	0,03
C23:0	0,04	<0,01	0,04	<0,01	0,04	<0,01	0,04	<0,01
Σ								
Saturados	16,22	40,29	16,13	40,66	16,05	40,94	16,01	41,07
Insaturados	83,78	59,71	83,87	59,34	83,95	59,06	83,99	58,93
Monoinsaturados	21,27	42,85	21,28	43,27	21,35	43,66	21,35	43,81
Polinsaturados	62,51	16,87	62,59	16,08	62,60	15,40	62,64	15,12
Insaturados/Saturados	5,17	1,48	5,20	1,46	5,23	1,44	5,25	1,43
ω -9	21,10	37,82	21,11	38,15	21,18	38,48	21,19	38,60
ω -7	0,18	4,99	0,17	5,08	0,16	5,15	0,16	5,18
ω -6	56,86	14,98	56,95	14,27	56,98	13,66	57,03	13,42
ω -3	5,65	1,41	5,64	1,33	5,63	1,25	5,62	1,21
ω -6/3	10,06	10,59	10,09	10,75	10,13	10,97	10,16	11,13

¹OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Aves

Foram utilizados 1.216 pintos de corte com um dia de idade, machos, da linhagem Cobb[®]. No primeiro e segundo experimento foram alojadas 448 e 768 aves, perfazendo 7 e 12 aves por unidade experimental, respectivamente. O peso médio inicial das aves foi de 44,73 g $\pm$ 0,4377 (P>0,05). O programa de luz adotado foi de acordo com o manual da linhagem.

Experimento I

Utilização de Nutrientes

No experimento de digestibilidade foi utilizado o método de coleta total de excretas. As aves foram alojadas em gaiolas metabólicas munidas de comedouro frontal, bebedouro do tipo *nipple* e bandejas de aço inoxidável para o recolhimento das excretas. Os ensaios metabólicos ocorreram dos seis aos 14 dias de idade das aves, com quatro dias de adaptação às dietas experimentais e quatro dias para o recolhimento das excretas, que ocorreu duas vezes ao dia, às 8h00 e 17h00.

As excretas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas por repetição e armazenadas em freezer a -16°C . Ao final de cada período experimental foi determinada a quantidade de ração consumida, bem como a quantidade total de excretas produzidas, que foram descongeladas, reunidas por repetição e homogeneizadas. Uma alíquota de cada repetição foi retirada e pesada, sendo em seguida colocada em estufa com ventilação forçada à temperatura de 55°C por 72 horas, a fim de se proceder a pré-secagem. Posteriormente, as amostras foram expostas ao ar para que houvesse equilíbrio com a temperatura e umidade ambiente. Em seguida foram pesadas, moídas e acondicionadas em recipientes para as análises laboratoriais.

Foram determinados os teores de umidade, matéria seca, nitrogênio e extrato etéreo das excretas e das rações, segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002) e energia bruta através de bomba calorimétrica (IKA[®] modelo C5003), para obter as informações dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), do nitrogênio (CDN), do extrato etéreo (CDEE) e da energia bruta corrigida pelo balanço de nitrogênio (CDEBn). Os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes foram determinados pela seguinte fórmula:

$$\text{CD nutriente (\%)} = \frac{(\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado})}{(\text{nutriente ingerido})} \times 100$$

O CDEBn foi determinado pela fórmula que apresenta-se a seguir. O valor de energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nutrientes (EMAn) foi calculado utilizando as equações propostas por Matterson et al. (1965):

$$\text{CDEBn} = \frac{\text{EMAn}}{\text{EB da dieta}} \times 100$$

$$\text{EMAn da ração (kcal/kg)} = \frac{(\text{EB ingerida} - (\text{EB excretada} + 8,22 \times \text{BN}))}{\text{Ingestão de alimento}}$$

Em que: EB = Energia bruta, BN = Balanço de nitrogênio = N ingerido – N excretado.

Experimento II

Desempenho

As aves foram alojadas em piso num aviário com 64 boxes de 0,9 x 1,4 m, em densidade de 9,5 aves/m². Foi utilizado um comedouro infantil por boxe até o sétimo dia de criação, sendo substituído por comedouro adulto que permaneceu até o final da criação. Os comedouros foram do tipo tubular e os bebedouros do tipo *nipple*. A altura dos comedouros e bebedouros foi ajustada conforme necessário, acompanhando o crescimento das aves. A cama foi de casca de arroz, nova e com 20 cm de espessura. O monitoramento do ambiente foi feito a cada duas horas por meio de um *data logger* posicionado dentro do galpão na altura das aves.

As variáveis analisadas foram: ganho de peso médio (GPM), calculado nos períodos acumulados de 1-14, 1-21 e 1-42 dias de idade, avaliado pela diferença entre o peso corporal médio no período e o peso corporal médio no alojamento; consumo de ração médio (CRM), mensurado pela diferença entre a ração fornecida e a consumida, corrigido pelo número de aves mortas; conversão alimentar (CA), obtida pela razão entre o CRM e o GPM das aves, corrigido pelo peso das aves mortas. A viabilidade de cada unidade experimental foi obtida pela subtração: 100 - mortalidade. A mortalidade foi medida diariamente entre às 7h00 e 19h00, sendo que as aves mortas depois das 19h00 entraram na contagem da mortalidade do dia seguinte. O valor obtido foi calculado em porcentagem. O índice de eficiência produtiva foi avaliado ao final do experimento (42 dias de idade) pela seguinte fórmula:

$$\text{IEP} = (((\text{VIAB} \times \text{GPMD}) / \text{CA}) / 10)$$

Onde: IEP = Índice de eficiência produtiva; VIAB = viabilidade (%); GPMD = ganho de peso médio diário (g), calculado com o ganho de peso médio dividido pelo número de dias do experimento; CA = conversão alimentar.

Composição e Teor de Ácidos Graxos da Carcaça

Ao término da criação (42 dias), uma ave por repetição foi submetida à jejum alimentar de oito horas, identificada, pesada e abatida. Posteriormente, as aves sem pés, cabeça e pescoço, depenadas, sangradas e com vísceras e gordura abdominal foram cortadas em pedaços com a ajuda de uma serra de fita e moídas em moedor de carne convencional. Após a moagem, as carcaças foram homogeneizadas, acondicionadas em duas placas de Petri e liofilizadas. O conteúdo de uma das placas de Petri foi destinado às análises de composição de carcaça, onde foram analisados os teores de umidade, nitrogênio e extrato etéreo. A segunda placa de Petri foi reservada para as análises de ácidos graxos. Os métodos aplicados na extração da gordura, metilação e análise dos ácidos graxos foram os mesmos empregados nas análises das frações lipídicas dos ingredientes usados nas rações.

Análises Estatísticas

A análise dos dados foi realizada com o auxílio do pacote estatístico SAS (2012), com critério de 5% de significância. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento MIXED. Quando necessário, as diferenças entre os tratamentos foram estudadas comparando-se as médias estimadas dos quadrados mínimos (LSMEANS) calculadas pelo comando PDIFF (*Compared Pairwise*). O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + c_k + (a \times b)_{ij} + (a \times c)_{ik} + (b \times c)_{jk} + (a \times b \times c)_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde: Y_{ijk} = variável resposta dos frangos alimentados com as fontes lipídicas (i), lisofosfolipídios (j) e ácidos orgânicos (k). μ = efeito geral da média. a_i = efeito fixo das fontes lipídicas. b_j = efeito fixo da suplementação de lisofosfolipídios. c_k = efeito fixo da inclusão de ácidos orgânicos. $(a \times b)_{ij}$ = interação das fontes lipídicas com os lisofosfolipídios. $(a \times c)_{ik}$ = interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos. $(b \times c)_{jk}$ = interação dos lisofosfolipídios com os ácidos orgânicos. $(a \times b \times c)_{ijk}$ = interação tríplice entre as fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos. e_{ijk} = erro termo (resíduo).

Os dados que não apresentaram normalidade de resíduos (teste de Shapiro-Wilk pelo procedimento UNIVARIATE) foram analisados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis por meio do procedimento NPAR1WAY.

17 RESULTADOS

Utilização de Nutrientes

Não houve interação dos fatores estudados sobre os coeficientes de digestibilidade (Tabela 14). Os lisofosfolipídios e os ácidos orgânicos aumentaram o CDMS das dietas. O óleo de soja e a inclusão de ácidos orgânicos apresentaram efeitos principais sobre o CDEE e o CDEBn, aumentando os valores encontrados. O CDN não foi alterado pelos tratamentos.

Tabela 14 - Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia bruta em frangos de corte alimentados com dietas iniciais a base de trigo

Efeitos ¹		Fase inicial			
		CDMS ²	CDN	CDEE	CDEBn
Lipídio	OS	71,03	63,23	79,56	75,62
	SB	70,72	63,09	69,66	72,84
LF	com	71,31	63,72	74,79	74,61
	sem	70,45	62,60	74,43	73,84
AO	+	71,37	63,82	75,54	74,79
	-	70,39	62,50	73,69	73,67
EPM ³		0,2084	0,3643	0,7608	0,2977
<i>Probabilidade</i>					
Lipídio		0,4249	0,8369	<0,0001	<0,0001
LF		0,0282	0,1205	0,6729	0,0968
AO		0,0126	0,0700	0,0350	0,0181
Lipídio*LF		0,1839	0,9589	0,2914	0,5660
Lipídio*AO		0,1558	0,7510	0,1784	0,0951
LF*AO		0,3039	0,7694	0,7397	0,9250
Lipídio*LF*AO		0,1986	0,0567	0,2098	0,2116

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²Valores expressos na matéria natural. CDMS, coeficiente de digestibilidade da matéria seca (%); CDN, coeficiente de digestibilidade do nitrogênio (%); CDEE, coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo; CDEBn, coeficiente de digestibilidade da energia bruta corrigida pelo balanço de nitrogênio.

³EPM, erro padrão da média.

Desempenho

Os fatores estudados não apresentaram interação sobre as resposta de desempenho (Tabela 15 e 16). Aos 14 e 21 dias, houve efeito somente das fontes lipídicas. O óleo de soja foi bastante eficaz em relação ao sebo sobre o ganho de peso, consumo e conversão alimentar.

Aos 42 dias de idade, as aves alimentadas com óleo de soja continuaram apresentando maior ganho de peso e melhor conversão alimentar, contudo, o consumo de ração não foi influenciado. Os ácidos orgânicos aumentaram o ganho de peso. A viabilidade e o fator de eficiência produtiva não foram alterados pelos tratamentos.

Tabela 15 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo no período de 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade

Efeitos ¹		Desempenho					
		1 a 14 dias			1 a 21 dias		
		GPM ²	CRM	CA	GPM	CRM	CA
Lipídio	OS	376,4	504,5	1,346	894,3	1254,4	1,413
	SB	350,6	492,6	1,407	840,4	1223,3	1,459
LF	com	363,6	498,9	1,374	867,5	1239,7	1,432
	sem	363,4	498,2	1,380	867,1	1238,0	1,440
AO	+	364,5	500,6	1,380	874,4	1243,7	1,435
	-	362,5	496,4	1,374	860,3	1234,1	1,437
EPM ³		2,4388	2,4204	0,0059	4,9602	5,3284	0,0043
<i>Probabilidade</i>							
Lipídio		<0,0001	0,0151	<0,0001	<0,0001	0,0042	<0,0001
LF		0,9625	0,8801	0,4806	0,9559	0,8675	0,2289
AO		0,6014	0,3769	0,5272	0,0631	0,3596	0,7244
Lipídio*LF		0,5114	0,6494	0,5379	0,6479	0,9143	0,9405
Lipídio*AO		0,1278	0,4122	0,1197	0,5795	0,6840	0,3009
LF*AO		0,5464	0,3950	0,6708	0,8614	0,7665	0,5786
Lipídio*LF*AO		0,5498	0,5215	0,7522	0,7920	0,8611	0,3105

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²GPM, ganho de peso médio (g); CRM, consumo de ração médio (g); CA, conversão alimentar.

³EPM, erro padrão da média.

Tabela 16 - Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo no período de 1 a 42 dias de idade

Efeitos ¹		Desempenho 1 a 42 dias				
		GPM ²	CRM	CA	VIAB ³	FEP
Lipídio	OS	2774,5	4546,5	1,670	94,27	371,26
	SB	2695,2	4521,9	1,706	95,31	358,59
LF	com	2738,6	4526,1	1,685	95,05	366,40
	sem	2731,1	4542,3	1,690	94,53	363,45
AO	+	2760,5	4550,6	1,685	94,27	365,97
	-	2709,2	4517,7	1,690	95,31	363,88
EPM ⁴		10,914	16,899	0,0045	0,8196	3,2662
<i>Probabilidade</i>						
Lipídio		<0,0001	0,4732	<0,0001	0,5306	0,0597
LF		0,6902	0,6378	0,5295	0,5306	0,6572
AO		0,0082	0,3392	0,5590	0,7881	0,7528
Lipídio*LF		0,2575	0,1064	0,8330	0,9524	0,8199
Lipídio*AO		0,8693	0,9148	0,1590	0,4031	0,1996
LF*AO		0,1141	0,2774	0,3463	0,2098	0,8200
Lipídio*LF*AO		0,7513	0,6527	0,6153	0,7881	0,9466

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²GPM, ganho de peso médio (g); CRM, consumo de ração médio (g); CA, conversão alimentar; VIAB, viabilidade (%), FEP, fator de eficiência produtiva (((VIAB × GPMD) / CA) / 10)), onde GPMD é ganho de peso médio diário (g).

³Variável submetida ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

⁴EPM, erro padrão da média.

Composição e Teor de Ácidos Graxos da Carcaça

Os valores de composição das carcaças estão apresentados na Tabela 17. As fontes lipídicas e os lisofosfolipídios apresentaram interação sobre a composição da matéria seca das carcaças. A inclusão de lisofosfolipídios aumentou a porcentagem de matéria seca das carcaças de frangos que receberam sebo bovino (Gráfico 14), provavelmente em resposta ao maior ganho de matéria seca no decorrer do experimento (Gráfico 15).

A porcentagem de extrato etéreo foi maior nas carcaças dos frangos que consumiram dietas contendo sebo bovino. Já os teores de água foram maiores nos tratamentos contendo óleo de soja. Esses resultados refletiram na relação extrato etéreo/água das carcaças, que foi maior nos tratamentos com sebo bovino. A relação extrato etéreo/nitrogênio também foi maior nas dietas contendo sebo.

O perfil de ácidos graxos das carcaças acompanhou o perfil de ácidos graxos das dietas (Tabelas 18 e 19). As dietas com óleo de soja proporcionaram maior incorporação de ácidos graxos polinsaturados, com exceção do ácido eicosatrienóico e (C20:3 *cis*-8, 11, 14), presente em maior quantidade no sebo bovino.

Observou-se interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos sobre os ácidos eicosadienóico (Gráfico 16) e araquidônico (Gráfico 17). A inclusão dos ácidos orgânicos nas dietas com óleo de soja melhorou a incorporação desses dois ácidos graxos polinsaturados. O aumento nos teores do ácido araquidônico devido à presença dos ácidos orgânicos nas dietas com óleo de soja proporcionou os mesmos valores encontrados com dietas contendo sebo bovino. A suplementação dos aditivos não influenciou os ácidos eicosadienóico e araquidônico das dietas com sebo bovino.

As relações ômega 6/3 e linoleico/alfa-linolênico foram menores em dietas com sebo bovino.

Tabela 17 - Composição da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base trigo

Efeitos ¹		Composição ² , %			Ganho decomposto das carcaças, g					
		MS	EE	N	MS	H ₂ O	EE	N	Relações	
									EE/H ₂ O	EE/N
Lipídio	OS	39,55	42,67	8,78	1094,7	1673,3	467,9	95,61	0,2806	4,870
	SB	40,59	45,55	8,58	1093,0	1599,3	497,9	93,66	0,3117	5,327
LF	com	40,22	44,37	8,65	1100,1	1636,6	488,5	95,11	0,2996	5,157
	sem	39,93	43,85	8,71	1087,6	1636,0	477,3	94,16	0,2928	5,040
AO	+	40,10	44,13	8,69	1104,7	1651,0	488,3	95,36	0,2971	5,093
	-	40,05	44,09	8,67	1083,0	1621,6	477,5	93,91	0,2952	5,104
EPM ³		0.2081	0,6123	0,0610	6,7812	9,3570	7,7515	0,7053	0,0055	0,0903
<i>Probabilidade</i>										
Lipídio		0,0104	0,0239	0,1014	0,8937	<0,0001	0,0605	0,1838	0,0055	0,0148
LF		0,4694	0,6769	0,6586	0,3433	0,9679	0,4804	0,5155	0,5319	0,5210
AO		0,9077	0,9775	0,9239	0,1025	0,0746	0,4945	0,3242	0,8593	0,9530
Lipídio*LF		0,0130	0,8316	0,3528	0,0181	0,1790	0,5013	0,5137	0,3276	0,9172
Lipídio*AO		0,8321	0,7820	0,4904	0,9598	0,7509	0,8170	0,8270	0,8309	0,6176
LF*AO		0,7376	0,9812	0,5549	0,1697	0,2875	0,5840	0,8268	0,8231	0,8749
Lipídio*LF*AO		0,5291	0,4483	0,9465	0,6899	0,5914	0,4236	0,4940	0,4170	0,4624

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²Valores expressos em 100% de matéria seca. MS, matéria seca; EE, extrato etéreo; N, nitrogênio; H₂O, água.

³EPM, erro padrão da média.

Tabela 18 - Perfil de ácidos graxos de cadeia média e longa da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de trigo

		g / 100 g de ácidos graxos													
Efeitos ¹		C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C17:0	C18:0	C18:1 ²	C18:1	C18:2	C18:2 ²	C18:3	C18:3
				<i>cis</i> -9			<i>cis</i> -9			<i>trans</i> -11	<i>cis</i> -9	<i>cis</i> -9, 12	<i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11	<i>cis</i> -6, 9, 12	<i>cis</i> -9, 12, 15
Lipídio	OS	0,028	0,479	0,110	0,103	24,51	4,25	0,151	5,71	0,000	36,19	25,6437	0,000	0,044	1,446
	SB	0,078	1,628	0,480	0,309	26,10	7,65	0,436	7,29	0,545	45,81	7,7477	0,482	0,030	0,546
LF	com	0,058	1,061	0,295	0,206	25,26	5,82	0,294	6,59	0,258	41,02	16,6613	0,234	0,029	0,990
	sem	0,048	1,045	0,296	0,206	25,35	6,08	0,293	6,41	0,287	40,98	16,7300	0,248	0,045	1,002
AO	+	0,055	1,054	0,302	0,207	24,92	5,87	0,295	6,56	0,283	40,85	17,1700	0,245	0,042	1,023
	-	0,051	1,053	0,288	0,206	25,69	6,02	0,291	6,44	0,263	41,14	16,2214	0,236	0,032	0,969
EPM ³		0,0046	0,0767	0,0251	0,0139	0,2786	0,2429	0,0193	0,1303	0,0371	0,6889	1,2904	0,0326	0,0050	0,0848
<i>Probabilidade</i>															
Lipídio		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,0040	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,1433	<0,001
LF		0,1446	0,4218	0,9531	0,9372	0,8542	0,1972	0,9736	0,2635	0,3658	0,9465	0,9497	0,6453	0,1343	0,9238
AO		0,5011	0,9431	0,3113	0,8240	0,1546	0,4427	0,5821	0,4708	0,5341	0,6036	0,3861	0,7899	0,3390	0,6691
Lipídio*LF		0,9846	0,5325	0,8825	0,1949	0,7263	0,1983	0,1290	0,2744	0,5074	0,8837	0,8945	0,8272	0,7074	0,5733
Lipídio*AO		0,1774	0,3162	0,3835	0,1202	0,1422	0,1575	0,8965	0,7304	0,7043	0,6430	0,4243	0,9807	0,9541	0,3737
LF*AO		0,3983	0,4966	0,3446	0,4490	0,6380	0,4903	0,1407	0,2550	0,7775	0,8627	0,8067	0,4874	0,5542	0,6476
Lipídio*LF*AO		0,9166	0,1727	0,4953	0,7457	0,7119	0,4799	0,9330	0,3014	0,5997	0,3194	0,5503	0,3489	0,0998	0,3447

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos;

-, ausência de ácidos orgânicos.

²Variável submetida ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

³EPM, erro padrão da média.

Tabela 19 - Perfil de ácidos graxos de cadeia muito longa, somatória e relações de ácidos graxos da carcaça de frangos de corte aos 42 dias de criação alimentados com dietas a base de trigo

Efeitos ¹		g / 100 g de ácidos graxos								
		C20:0	C20:1	C20:2	C20:3	C20:4	Σ^2		Relações ³	
			<i>cis</i> -11	<i>cis</i> -11, 14	<i>cis</i> -8, 11, 14	<i>cis</i> -5, 8, 11, 14	ω -6	ω -3	ω -6/3	Lin/alfa-L
Lipídio	OS	0,102	0,309	0,2578	0,039	0,1342	25,71	1,391	19,68	19,38
	SB	0,039	0,348	0,07517	0,061	0,1534	8,07	0,512	15,96	15,34
LF	com	0,068	0,329	0,1639	0,044	0,1478	17,06	0,958	17,88	17,43
	sem	0,074	0,328	0,1690	0,056	0,1398	16,73	0,945	17,76	17,29
AO	+	0,070	0,326	0,1701	0,051	0,1645	17,61	1,023	17,26	16,78
	-	0,072	0,331	0,1629	0,050	0,1232	16,17	0,880	18,38	17,95
EPM ⁴		0,0047	0,0052	0,0127	0,0044	0,0086	1,2883	0,0808	0,4530	0,4600
<i>Probabilidade</i>										
Lipídio		<0,001	0,0001	<0,001	0,0097	0,2200	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
LF		0,2057	0,9689	0,5200	0,1428	0,6092	0,7574	0,9069	0,8750	0,8490
AO		0,6817	0,5430	0,3643	0,8514	0,0103	0,1763	0,2178	0,1480	0,1191
Lipídio*LF		0,1405	0,5117	0,4179	0,5425	0,3113	0,5859	0,8554	0,5884	0,6203
Lipídio*AO		0,2447	0,4588	0,0353	0,0823	0,0169	0,1959	0,2440	0,1424	0,1018
LF*AO		0,7761	0,4877	0,4982	0,3606	0,1156	0,4880	0,4661	0,1598	0,1401
Lipídio*LF*AO		0,9171	0,1546	0,5018	0,1374	0,2339	0,7935	0,8067	0,5492	0,5208

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

² Σ , somatória de ácidos graxos das famílias ômega 6 (ω -6) e ômega 3 (ω -3).

³Relações de ácidos das famílias ômega 6/ômega 3 (ω -6/3) e linoleico/alfa-linolênico (Lin/alfa-L)

⁴EPM, erro padrão da média.

Gráfico 14 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolipídios na matéria seca (MS, %) das carcaças de frangos de corte aos 42 dias de idade

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 16 - Interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos sobre a concentração de ácido eicosadienóico (C20:2 *cis*-11, 14) na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 15 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de lisofosfolipídios no ganho de matéria seca (MS, g) das carcaças de frangos de corte aos 42 dias de idade

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 17 - Interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos sobre a concentração de ácido araquidônico (C20:4 *cis*-5, 8, 11, 14) na carcaça de frangos de corte

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

18 DISCUSSÃO

O aumento na digestibilidade da matéria seca pela inclusão dos aditivos pode ser explicado pela ação direta sobre os constituintes da ração ou por uma ação indireta, melhorando a saúde intestinal. No entanto, não houve complementariedade entre a ação dos dois aditivos. Até o momento há poucas informações sobre os efeitos dos lisofosfolipídios, principalmente sobre a digestibilidade de dietas em frangos de corte. Raju et al. (2011) demonstrou a possibilidade do emprego de lisofosfolipídios derivados do arroz como fonte de energia em rações para frangos, observando aumento no ganho de peso e na digestibilidade da gordura. Zhang et al. (2011) confirmaram o aumento na digestibilidade da gordura e de ácidos graxos com o emprego de lisofosfolipídios na dieta, porém não observaram melhoras na digestibilidade da matéria seca da ração. Apesar de haver alguns pontos contraditórios entre os resultados dessa pesquisa com a literatura citada, há indicativos de que o uso de lisofosfolipídios contribui com o aumento da digestibilidade dos nutrientes, sendo uma opção para incrementar a energia da dieta.

Os ácidos orgânicos também melhoraram o CDEE e o CDEBn. A melhora da absorção dos constituintes da ração deve-se ao mecanismos de ação dos ácidos orgânicos sobre a microbiota intestinal, que afeta a integridade da membrana celular microbiana interferindo no transporte iônico e consequentemente no gasto de energia celular, podendo levar à depressão do crescimento ou até à morte (ALAKOMI et al., 2000; RICKE, 2003; IMMERSEEL et al., 2006). A inibição do crescimento bacteriano indesejável diminui as perdas de sais biliares (KNARREBORG et al., 2002), fato que pode ter levado à melhora na digestibilidade do extrato etéreo e da energia bruta. Além disso, os ácidos orgânicos agem na morfologia do trato intestinal aumentando a altura dos vilos (ADIL et al., 2010) e combatendo diversos microrganismos patogênicos como a *Salmonella*, o *Campylobacter* (BYRD et al., 2001) e a *Eimeria tenella* (ABBAS et al., 2011).

Os valores bastante superiores do óleo de soja sobre a digestibilidade do extrato etéreo e da energia bruta condizem com diversos estudos que demonstraram a superioridade do óleo de soja em relação ao sebo bovino (FASCINA et al. 2009), principalmente em dietas ricas em PNAs solúveis (DÄNICKE et al., 1997, 2000; MENG; SLOMINSKI; GUENTER, 2004). Apesar do efeito pronunciado dos PNAs na redução da digestão de gorduras, principalmente de gorduras mais saturadas, não houve interação das fontes lipídicas com os aditivos propostos.

Os resultados de digestibilidade tiveram reflexo no desempenho das aves. O óleo de soja promoveu maior ganho de peso e melhor conversão alimentar, enquanto os ácidos orgânicos atuaram melhorando somente o ganho de peso. No entanto, de acordo com os resultados de digestibilidade, nenhuma interação entre as fontes lipídicas e os aditivos foram observadas, indicando que os ácidos orgânicos podem melhorar o ganho de peso de frangos alimentados com dietas a base de trigo tanto contendo óleo de soja como sebo bovino. É válido destacar que a viabilidade não foi comprometida pelo maior crescimento das aves alimentadas com óleo de soja. Apesar disso, nas condições experimentais deste trabalho, não foi possível demonstrar efeito sobre o fator de eficiência produtiva.

A maior quantidade de extrato etéreo nas carcaças de frangos alimentados com sebo bovino está adequado com Sanz, Flores e Lopez-Bote (2000), que observaram maior gordura corporal em frangos alimentados com maiores teores de ácidos graxos saturados. Outras pesquisas evidenciaram o acúmulo de gordura no abdome ou em outras regiões da carcaça em consequência de dietas com níveis maiores de ácidos graxos saturados (SANZ, 1999; NEWMAN et al., 2002; FERRINI et al., 2008; WONGSUTHAVAS et al., 2008). O menor teor de água nas carcaças provenientes das dietas com sebo bovino parece estar relacionado com as maiores taxas de extrato etéreo. É sabido que a deposição de gordura é associada com pouca água nos tecidos adiposos (em torno de 10%) quando comparamos com os tecidos musculares, os quais contêm 75% de água em média. Portanto, é de se esperar que carcaças com mais extrato etéreo apresentem menor umidade. Esse raciocínio pode ser sustentado pelos resultados encontrados nas relações de extrato etéreo/água e extrato etéreo/nitrogênio, que foram significativamente maiores nos tratamentos com sebo bovino.

O incremento do teor de matéria seca das carcaças provocado pela inclusão dos lisofosfolipídios em dietas com sebo bovino pode ser decorrente do aumento que os lisofosfolipídios causaram no CDMS das dietas. No entanto, é importante destacar que a melhora na digestibilidade da matéria seca por meio da inclusão dos lisofosfolipídios ocorreu independente da fonte lipídica, contrariando os resultados sobre a retenção de matéria seca na carcaça, em que os lisofosfolipídios foram eficazes somente em dietas contendo sebo bovino. Esse efeito sobre a matéria seca da carcaça pode compensar parcialmente o menor ganho de peso das aves alimentadas com sebo bovino, no entanto, as causas que levaram a esses resultados precisam ser melhor compreendidas.

O perfil de ácidos graxos das carcaças foi bastante definido entre as fontes lipídicas. De forma geral, o sebo bovino proporcionou maiores teores de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, ao passo que o óleo de soja conferiu maiores quantidades de ácidos graxos

polisaturados. Os ácidos graxos polinsaturados linoleico conjugado (*cis*-9 *trans*-11) e eicosatrienóico foram exceções e apresentaram maiores valores nas carcaças que receberam sebo bovino, no entanto, esses resultados acompanharam os maiores valores desses dois ácidos graxos presentes no sebo bovino em relação ao óleo de soja. O efeito decisivo dos lipídios dietéticos sobre os ácidos graxos presentes na gordura da carcaça de frangos está de acordo com diversos autores (BADINGA et al., 2003; CORTINAS et al., 2004; VILLAYERDE et al., 2006; FERRINI et al., 2008; YANG et al., 2010; BAEZA et al., 2013).

Os ácidos orgânicos interagiram com o óleo de soja incrementando a absorção dos ácidos eicosadienóico e araquidônico, demonstrando que a microbiota intestinal pode exercer influência sobre a incorporação de ácidos graxos polinsaturados de cadeia muito longa. A resposta positiva dos ácidos orgânicos somente em dietas contendo óleo de soja pode ser atribuída à alta quantidade de ácidos graxos ômega 6 que são encontrados no óleo de soja, principalmente de ácido linoleico, que pode ter sido beneficiado na digestão pela ação dos ácidos orgânicos sobre o equilíbrio da microbiota intestinal. Knarreborg et al. (2002) evidenciaram o efeito negativo do crescimento indesejado da microbiota intestinal sobre a absorção de lipídios.

Apesar do óleo de soja ter apresentado maior incorporação dos ácidos graxos das famílias ômega 6 e 3, as relações ômega 6/3 e linoleico/alfa-linolênico foram melhores nas carcaças que receberam sebo bovino. Considerando que as relações ômega 6/3 entre as dietas foram bem próximas, é possível que essa diferença conferida nas carcaças possa ter sido causada por uma porcentagem maior no aproveitamento de ácidos graxos ômega 3 do sebo bovino. Essa hipótese pode ter ocorrido em razão das baixas quantidades que os ácidos graxos essenciais da família ômega 3 estavam presentes nas dietas com sebo. Tais resultados sugerem que a retenção corporal de ácidos graxos ômega 3 pode sofrer influência de restrição alimentar qualitativa.

19 CONCLUSÃO

O diferente perfil de ácidos graxos das fontes lipídicas influencia fortemente o CDEE e o CDEBn, com reflexos bastante proeminentes sobre o desempenho. Apesar dos menores valores encontrados em dietas com sebo bovino, que são acentuados sobre condições de alta viscosidade intestinal, os aditivos não apresentam interação com as fontes lipídicas sobre as respostas de digestibilidade e desempenho. Os lisofosfolipídios atuam aumentando somente o CDMS das dietas. Já os ácidos orgânicos melhoram a digestibilidade das dietas e aumentam o ganho de peso das aves.

As fontes lipídicas exercem forte influencia sobre a qualidade das carcaças. O óleo de soja proporciona carcaças com menor quantidade de gordura e com maiores quantidades de ácidos graxos polinsaturados. A inclusão de ácidos orgânicos interage com o óleo de soja aumentando a incorporação dos ácidos eicosadienóico e araquidônico. Apesar da maior quantidade de ácidos graxos ômega 6 e ômega 3 em carcaças de frangos alimentados com óleo de soja, o sebo bovino melhora a relação entre eles.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, R. Z.; MUNAWAR, S. H.; MANZOOR, Z.; IQBAL, Z.; KHAN, M. N.; SALEEMI, M. K.; ZIA, M. A.; YOUSAF, A. Anticoccidial effects of acetic acid on performance and pathogenic parameters in broiler chickens challenged with *Eimeria tenella*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 99-103, 2011.
- ADIL, S.; BANDAY, T.; BHAT, G. A.; MIR, M. S.; REHMAN, M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, p. 1-7, 2010.
- ALAKOMI, H.-L.; SKYTTÄ, E.; SAARELA, M.; MATTILLA-SANDHOLM, T.; LATVA-KALA, K.; HELANDER, I. M. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 2001-2005, 2000.
- BADINGA, L.; SELBERG, K. T.; DINGES, A. C.; COMER, C. W.; MILES, R. D. Dietary conjugated linoleic acid alters hepatic lipid content and fatty acid composition in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, n. 1, p. 111-116, 2003.
- BAEZA, E.; CHARTRIN, P.; GIGAUD, V.; TAUTY, S.; METEAU, K.; LESSIRE, M.; BERRI, C. Effects of dietary enrichment with n-3 fatty acids on the quality of raw and processed breast meat of high and low growth rate chickens. **British Poultry Science**, v. 54, n. 2, p. 190-198, 2013.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian J. Biochem. Physiol.**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.
- BYRD, J. A.; HARGIS, B. M.; CALDWELL, D. J.; BAILEY, R. H.; HERRON, K. L.; McREYNOLDS, J. L.; BREWER, R. L.; ANDERSON, R. C.; BISCHOFF, K. M.; CALLAWAY, T.R.; KUBENA, L.F. Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. **Poultry Science**, v. 80, n. 3, p. 278-283, 2001.
- CHRISTIE, W. W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, v. 23, p. 1072-1075, 1982.
- CORTINAS, L.; VILLAVERDE, C.; GALOBART, J.; BAUCCELLS, M.D.; CODONY, R.; BARROETA, A. C. Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturation level. **Poultry Science**, v. 83, n. 7, p. 1155-1164, 2004.
- DÄNICKE, S.; JEROCH, H.; BÖTTCHER, W.; SIMON, O. Interactions between dietary fat type and enzyme supplementation in broiler diets with high pentosan contents: effects on precaecal and total tract digestibility of fatty acids, metabolizability of gross energy, digesta viscosity and weights of small intestine. **Animal Feed Science and Technology**, v. 84, n. 3-4, p. 279-294, 2000.
- DÄNICKE, S.; SIMON, O.; JEROCH, H.; BEDFORD, M. Interactions between dietary fat type and xylanase supplementation when rye-based diets are fed to broiler chickens 2. Performance, nutrient digestibility and the fat-soluble vitamin status of livers. **British Poultry Science**, v. 38, n. 5, p. 546-556, 1997.

FASCINA, V. B.; CARRIJO, A. S.; SOUZA, K. M. R.; GARCIA, A. M. L.; KIEFER, C.; SARTORI, J. R. Soybean oil and beef tallow in starter broiler diets. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 11, n. 4, p. 249-256, 2009.

FERRINI, G.; BAUCCELLS, M. D.; ESTEVE-GARCÍA, E.; BARROETA, A. C. Dietary polyunsaturated fat reduces skin fat as well as abdominal fat in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 87, n. 3, p. 528-535, 2008.

IMMERSEEL, F. V.; RUSSEL, J. B.; FLYTHE, M. D.; GANTOIS, I.; TIMBERMONT, L.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. **Avian Pathology**, v. 35, n. 3, p. 182-188, 2006.

KNARREBORG, A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, S. K.; JENSEN, B. B. Quantitative determination of bile salt hydrolase activity in bacteria isolated from the small intestine of chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 6425-6428, 2002.

KRAMER, J. K. G.; FELLNER, V.; DUGAN, M. E. R. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v. 32, n. 11, p. 1219-1228, 1997.

MAISONNIER, S.; GOMEZ, J.; BRÉE, A.; BERRI, C.; BAÉZA, E.; CARRÉ, B. Effects of microflora status, dietary bile salts and guar gum on lipid digestibility, intestinal bile salts, and histomorphology in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, n. 5, p. 805-814, 2003.

MAISONNIER, S.; GOMEZ, J.; CARRÉ, B. Nutrient digestibility and intestinal viscosities in broiler chickens fed on wheat diets, as compared to maize diets with added guar gum. **British Poultry Science**, v. 42, n. 1, p. 102-110, 2001.

MATTERSON, L. D.; POTTER, L. M.; STUTZ, M. W.; SINGSEN, E. P. **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Connecticut: Uniconn Press, 1965. 11 p.

MENG, X.; SLOMINSKI, B.A.; GUENTER, W. The effect of fat type, carbohydrase, and lipase addition on growth performance and nutrient utilization of young broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, v.83, p.1718-1727, 2004.

NEWMAN, R. E.; BRYDEN, W. L.; FLECK, E.; ACHES, J. R.; BUTTEMER, W. A.; STORLIEN, L. H.; DOWNING, J. A. Dietary *n*-3 and *n*-6 fatty acids alter avian metabolism: metabolism and abdominal fat deposition. **British Journal of Nutrition**, v. 88, n. 1, p. 11-18, 2002.

RAJU, M. V. L. N.; RAMA RAO, S. V.; CHAKRABARTI, P. P.; RAO, B. V. S. K.; PANDA, A. K.; PRABHAVATHI DEVI, B. L. A.; SUJATHA, V.; REDDY, J. R. C.; SHYAM SUNDER, G.; PRASAD, R. B. N. Rice bran lysolecithin as a source of energy in broiler chicken diet. **British Poultry Science**, v. 52, n. 6, p. 769-774, 2011.

RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 632-639, 2003.

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. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252 p.

SANZ, M. Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. **British Poultry Science**, v. 40, n. 1, p. 95-101, 1999.

SANZ, M.; FLORES, A.; LOPEZ-BOTE, C. J. The metabolic use of energy from dietary fat in broilers is affected by fatty acid saturation. **British Poultry Science**, v. 41, n. 1, p. 61-68, 2000.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.** 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 165 p.

SMEDES, F.; THOMASEN, T. K. Evaluation of the Bligh and Dyer lipid determination method. **Marine Pollution Bulletin**, v. 32, n. 8-9, p. 681-688, 1996.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. (SAS). Institute Inc. **User's Guide.** Cary, NC, USA: SAS Institute Inc. 2012.

VILLAYERDE, C.; BAUCCELLS, M. D.; CORTINAS, L.; BARROETA, A. C. Effects of dietary concentration and degree of polyunsaturation of dietary fat on endogenous synthesis and deposition of fatty acids in chickens. **British Poultry Science**, v. 47, n. 2, p. 173-179, 2006.

WONGSUTHAVAS, S.; TERAPUNTUWAT, S.; WONGSRIKEAW, W.; KATAWATIN, S.; YUANGKLANG, C.; BEYNEN, A. C. Influence of amount and type of dietary fat on deposition, adipocyte count and iodine number of abdominal fat in broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, n. 1, p. 92-98, 2008.

YANG, X.; ZHANG, B.; GUO, Y.; JIAO, P.; LONG, F. Effects of dietary lipids and *Clostridium butyricum* on fat deposition and meat quality of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 89, n. 2, p. 254-260, 2010.

ZHANG, B.; HAITAO, L.; ZHAO, D.; GUO, Y.; BARRI, A. Effect of fat type and lysophosphatidylcholine addition to broiler diets on performance, apparent digestibility of fatty acids, and apparent metabolizable energy content. **Animal Feed Science and Technology**, v. 163, n. 2, p. 177-184, 2011.

CAPÍTULO V

Efeitos da inclusão de fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos sobre a alometria de órgãos do sistema digestórios, microbiologia jejunal e concentração hepática de vitaminas lipossolúveis A e E em frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo.

Effects of lipid sources, lysophospholipids and organic acids on allometry of organs of the digestive system, jejunal microbiota and liver concentrations of fat-soluble vitamins A and E of broiler fed wheat-based diets

20 INTRODUÇÃO

O trigo é um cereal de clima frio bastante utilizado nas rações de frangos em países europeus. É sabido que esse cereal possui altas quantidades de polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) solúveis, que causam danos na mucosa intestinal, condições inflamatórias no intestino e impactam a microbiota intestinal, com diferenças mais explícitas aos 15 dias de idade (JIA et al., 2009; TEIRLYNCK et al., 2009a). Frente as imposições estabelecidas pela União Europeia sobre a proibição de antibióticos em rações, é necessário estudar alternativas que avaliem aditivos com potencial de substituição, principalmente quando os lipídios em dietas a base de trigo apresentam maiores quantidades de ácidos graxos saturados (KNARREBORG et al., 2002a).

Foi demonstrado em dietas com altas quantidades de pentosanas solúveis que a fonte lipídica pode alterar o peso do intestino delgado assim como a microbiota intestinal (DÄNICKE et al., 1999, 2000). Considerando que a microbiota pode desconjugar os sais biliares e prejudicar a emulsão dos lipídios (KNARREBORG et al., 2002b), é possível que o uso de emulsificante exógeno e de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, possam incrementar a digestão dos lipídios em dietas com trigo, com consequências sobre o aproveitamento de vitaminas lipossolúveis.

A proposta deste trabalho foi avaliar dietas a base de trigo para frangos de corte contendo diferentes fontes lipídicas suplementadas ou não com lisofosfolipídios e ácidos orgânicos sobre a alometria de órgãos, pH e microbiologia jejunal, e sobre a concentração hepáticas das vitaminas lipossolúveis A e E, na tentativa de compreender alguns efeitos e mecanismos de ação dessas dietas em frangos de corte.

21 MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e Dietas Experimentais

O delineamento foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$: duas fontes lipídicas (óleo de soja ou sebo bovino), contendo ou não lisofosfolipídios e ácidos orgânicos. Foram utilizadas oito repetições. As dietas foram as mesmas apresentadas no capítulo IV, fornecidas *ad libitum*.

Aves

Foram utilizados 192 pintos de corte com um dia de idade, machos, da linhagem Cobb®, criados num aviário experimental, em piso, forrado com cama nova de casca de arroz com 20 cm de espessura. Cada tratamento foi composto por 24 aves, divididas em três grupos de oito aves cada. Aos 14 dias de idade, cada grupo foi destinado, respectivamente, à coleta de órgãos para alometria e medição do pH jejunal, às coletas de raspado de conteúdo do jejunum para as análises microbiológicas e à coleta de fígado para mensuração do teor de vitaminas lipossolúveis A e E. Portanto, cada unidade experimental foi representada por uma ave. O programa de luz adotado foi de acordo com o manual da linhagem.

Peso e Comprimento de Órgãos

Os seguintes órgãos foram retirados e pesados: moela, proventrículo, pâncreas, fígado, duodeno, jejunum, íleo e intestino grosso. Antes de serem sacrificadas, as aves foram pesadas para obtenção do peso vivo, a fim de calcular os pesos relativos de órgãos em relação ao peso corporal das aves em jejum. Também foi medido o comprimento dos intestinos com o auxílio de uma fita métrica.

pH e Microbiologia Jejunal

Na determinação do pH foi retirado 1g de conteúdo intestinal do jejunum para armazenamento em potes plásticos com 30 mL de água destilada. Os frascos foram agitados e na sequência foi feita a leitura em pHmetro de mesa convencional.

Também foram coletadas amostras de raspado do jejunum para realizar as análises microbiológicas. As amostras foram retiradas do jejunum com o auxílio de pequenas espátulas de madeira previamente autoclavadas. As amostras foram imediatamente congeladas sob refrigeração a -20°C , para, posteriormente, serem realizadas análises quanto à presença de

enterobactérias totais; cocos gram positivos e anaeróbios totais, segundo metodologia descrita por Danicke et al. (1999).

Concentração de Vitaminas A e E no Fígado

Foram sacrificadas oito aves por tratamento para a retirada do fígado, que foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido. Posteriormente foram determinadas as concentrações de vitaminas lipossolúveis A e E, detectadas como retinol e α -tocoferol, respectivamente.

O padrões analíticos das vitaminas retinol e α -tocoferol foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Alemanha), com pureza superior a 98,5%, sendo as soluções estoque, concentração de $100 \text{ mg}^* \text{L}^{-1}$, bem como as de trabalho, em concentrações diferenciadas, preparadas em solvente metanol grau HPLC. Todos os solventes utilizados, metanol, etanol, 2-propanol, hexano, foram obtidos da Mallinckrodt (USA), cloreto de sódio da empresa Synth (Brasil) e hidróxido de tolueno butilato da Sigma-Aldrich (Alemanha).

As amostras de fígado foram maceradas, sendo adicionado o solvente etanol saturado com ácido ascórbico juntamente com três mL da solução saturada de NaCl. Após, a mistura foi homogeneizada, acrescentando cinco mL do solvente hexano contendo 2 % de 2-propanol e 0,01 % de BHT (Hidróxido de Tolueno Butilato). Em seguida a mistura foi homogeneizada em vortex por um minuto e centrifugada por cinco minutos a 4.000 rpm. O sobrenadante foi removido (fase orgânica) para um segundo frasco e o processo repetido com a amostra, adicionando novamente cinco mL de solvente hexano. A fase orgânica foi seca com nitrogênio, reconstituída com a fase móvel metanol/água (98%/2%, v/v) e injetada no cromatógrafo líquido.

Os extratos das vitaminas A e E foram analisados por cromatografia líquida com detecção por ultravioleta (LC-UV) e cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas *in tandem* (LC-MS/MS). As condições cromatográficas para o LC-UV: Cromatógrafo da Agilent Série 1.200, coluna Nucleosil Shell RP 18 (100 mm x 4,6 mm x 2,7 μm), fase móvel metanol/água (98%/2%, v/v), com comprimento de onda de 325 nm para a vitamina A e 290 nm para a vitamina E, injetando um volume de 20 μL , fluxo de um mL/min. As condições cromatográficas para o LC-MS/MS: Cromatógrafo da Agilent 1.200 Series, coluna Nucleosil Shell RP 18 (100 mm x 4,6 mm x 2,7 μm), fase móvel água + 0,1 % ácido fórmico e metanol + 0,1 % ácido fórmico (2%/98%, v/v), volume injetado de 10 μL e fluxo de um mL/min. Espectrômetro de massas 3.200 QTRAP (Linear Ion Trap Quadrupole LC/MS/MS Mass Spectrometer), ionização por electrospray, modo positivo. Para a vitamina

A o íon precursor (m/z) e íon fragmento (m/z) foram 269 e 93, 91, 77, e para a vitamina E o íon precursor (m/z) e íon fragmento (m/z) foram 431 e 165, 137, 69, respectivamente.

Análises Estatísticas

A análise dos dados foi realizada com o auxílio do pacote estatístico SAS (2012), com critério de 5% de significância. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento MIXED. Quando necessário, as diferenças entre os tratamentos foram estudadas comparando-se as médias estimadas dos quadrados mínimos (LSMEANS) pelo comando PDIFF (*Compared Pairwise*). O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + c_k + (a \times b)_{ij} + (a \times c)_{ik} + (b \times c)_{jk} + (a \times b \times c)_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde: Y_{ijk} = variável resposta dos frangos alimentados com as fontes lipídicas (i), lisofosfolipídios (j) e ácidos orgânicos (k). μ = efeito geral da média. a_i = efeito fixo das fontes lipídicas. b_j = efeito fixo da suplementação de lisofosfolipídios. c_k = efeito fixo da inclusão de ácidos orgânicos. $(a \times b)_{ij}$ = interação das fontes lipídicas com os lisofosfolipídios. $(a \times c)_{ik}$ = interação das fontes lipídicas com os ácidos orgânicos. $(b \times c)_{jk}$ = interação dos lisofosfolipídios com os ácidos orgânicos. $(a \times b \times c)_{ijk}$ = interação tríplice entre as fontes lipídicas, lisofosfolipídios e ácidos orgânicos. e_{ijk} = erro termo (resíduo).

Os dados que não apresentaram normalidade de resíduos (teste de Shapiro-Wilk pelo procedimento UNIVARIATE) foram submetidos à transformação logarítmica ou arco seno.

22 RESULTADOS

Peso e Comprimento de Órgãos

Os valores de peso relativo e comprimento de órgãos do sistema digestório estão apresentados na Tabela 20. Houve interação das fontes lipídicas com a adição dos ácidos orgânicos sobre o peso relativo do duodeno (Gráfico 18). Em dietas sem ácidos orgânicos, o óleo de soja proporcionou maior peso de duodeno. Contudo, a inclusão de ácidos orgânicos aumentou o peso do duodeno em dietas contendo sebo bovino, não havendo diferença entre as fontes lipídicas em dietas contendo ácidos. O comprimento do duodeno também foi alterado, o qual foi maior em dietas contendo óleo de soja, independente da adição de aditivos.

Foi observado interação tripla no peso relativo do intestino grosso (Gráfico 19). O sebo bovino proporcionou maior peso relativo de intestino grosso em dietas sem suplementação. Em dietas com adição de aditivos, isolados ou combinados, os resultados não evidenciaram diferenças significativas.

pH e Microbiologia Jejunal

Os valores de pH e os resultados da contagem total de microrganismos são apresentados na tabela 21. Não foi possível demonstrar diferença significativa sobre os valores de pH.

O crescimento de enterobactérias nas amostras de raspado de jejuno deste experimento ficaram abaixo do limiar de detecção. Não foram observadas interações sobre a contagem de cocos gram positivos e anaeróbios totais. As fontes lipídicas modificaram as populações de microrganismos cocos gram positivos, os quais cresceram mais em amostras advindas de dietas contendo sebo bovino, independente da inclusão dos aditivos. Os tratamentos não influenciaram os microrganismos anaeróbios totais.

Tabela 20 - Órgãos do sistema digestório aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo

Efeitos ¹		Peso relativo de órgãos, %								Comprimento de órgãos, cm			
		Moela	Proventrículo	Pâncreas	Fígado	Duodeno	Jejuno	Íleo	Grosso	Duodeno	Jejuno	Íleo	Grosso
Lipídio	OS	5,026	0,762	0,382	3,409	1,605	3,623	2,946	1,605	22,76	54,59	49,15	16,75
	SB	5,127	0,742	0,395	3,586	1,577	3,653	3,114	1,740	21,62	53,14	48,83	16,59
LF	com	5,141	0,743	0,398	3,454	1,562	3,598	3,077	1,632	22,40	53,99	49,37	16,82
	sem	5,012	0,762	0,378	3,541	1,620	3,677	2,983	1,714	21,98	53,73	48,62	16,52
AO	+	4,976	0,733	0,390	3,533	1,613	3,617	2,976	1,690	22,03	52,99	48,38	16,89
	-	5,177	0,771	0,387	3,461	1,569	3,658	3,084	1,655	22,35	54,74	49,60	16,45
EPM ²		0,0793	0,0136	0,0067	0,0476	0,0214	0,0461	0,0493	0,0342	0,2213	0,5732	0,5915	0,1898
<i>Probabilidade</i>													
Lipídio		0,5335	0,4861	0,3462	0,0545	0,5208	0,7497	0,0893	0,0479	0,0094	0,2131	0,7961	0,6680
LF		0,4275	0,4890	0,1373	0,3387	0,1784	0,4057	0,3404	0,2246	0,3311	0,8222	0,5381	0,4156
AO		0,2217	0,1713	0,8581	0,4287	0,2969	0,6675	0,2746	0,6011	0,4509	0,1326	0,3217	0,2317
Lipídio*LF		0,9610	0,3766	0,8434	0,0653	0,4946	0,1671	0,5994	0,6762	0,5144	0,4351	0,3496	0,0856
Lipídio*AO		0,6206	0,6226	0,0772	0,0538	0,0209	0,2330	0,1000	0,7313	0,1089	0,5537	0,8478	0,1048
LF*AO		0,8010	0,6617	0,8840	0,7399	0,8254	0,8625	0,9258	0,8878	0,8775	0,5830	0,6694	0,1401
Lipídio*LF*AO		0,2252	0,0654	0,1731	0,2909	0,5949	0,4886	0,6444	0,0486	0,3684	0,2250	0,3000	0,7176

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²EPM, erro padrão da média.

Gráfico 18 - Interação das fontes lipídicas com a inclusão de ácidos orgânicos no peso relativo do duodeno (%) de frangos de corte aos 14 dias de idade

¹Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas na linhas, diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino.

Gráfico 19 - Interação tripla sobre o peso relativo do intestino grosso (%) de frangos de corte aos 14 dias de idade

¹Valores acompanhados de letras maiúsculas distintas diferem a 5% de probabilidade. OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; LF, lisofosfolípídios; AO, ácidos orgânicos.

Tabela 21 - pH e microbiologia jejunal aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo

Efeitos ¹		pH	Microbiologia, UFC/g ²	
			Cocos gram +	Anaeróbios totais
Lipídio	OS	6,562	3,8445	7,3538
	SB	6,561	5,7241	8,0961
LF	com	6,555	4,7121	7,8420
	sem	6,569	4,8565	7,6079
AO	+	6,577	4,5080	7,5011
	-	6,547	5,0607	7,9487
EPM ³		0,0091	0,3449	0,2326
<i>Probabilidade</i>				
Lipídio		0,9552	0,0079	0,1206
LF		0,4327	0,8330	0,6212
AO		0,1124	0,4211	0,3460
Lipídio*LF		0,5392	0,8671	0,3049
Lipídio*AO		0,9437	0,7546	0,6293
LF*AO		0,0624	0,9379	0,9625
Lipídio*LF*AO		0,8047	0,9111	0,4679

¹LF, lisofosfolípídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolípídios; sem, ausência de lisofosfolípídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²UFC/g, unidades formadoras de colônias por g de amostra. Dados submetidos à transformação logarítmica.

³EPM, erro padrão da média.

Concentração de Vitaminas A e E no Fígado

O óleo de soja proporcionou maior teor de vitaminas lipossolúveis A e E no fígado das aves (Tabela 22). Esses resultados se devem à maior concentração de ácidos graxos insaturados do óleo de soja, que confere menor ponto de fusão às moléculas. O comprimento

da cadeia carbônica também exerce efeito sobre o ponto de fusão, que determina o estado físico dos óleos e gorduras em temperatura ambiente. Quanto menor for o ponto de fusão, mais facilmente os lipídios serão emulsificados pela ação dos sais biliares no intestino, sucedendo na absorção das vitaminas lipossolúveis, que são absorvidas via complexo micelar junto com os compostos lipídicos.

Tabela 22 - Concentração hepática de vitaminas lipossolúveis A e E aos 14 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas a base de trigo

Efeitos ¹		Vitaminas			
		A		E	
		mg/kg ²	mg ³	mg/kg ²	mg ³
Lipídio	OS	2,204	2,306	1,759	1,708
	SB	1,586	1,572	1,335	1,287
LF	com	1,770	1,861	1,618	1,601
	sem	2,020	2,016	1,477	1,394
AO	+	2,139	2,190	1,683	1,667
	-	1,650	1,687	1,411	1,328
EPM ⁴		0,1356	0,1643	0,1083	0,1072
<i>Probabilidade</i>					
Lipídio		0,0471	0,0521	0,0489	0,0450
LF		0,4130	0,6746	0,5045	0,3175
AO		0,1126	0,1780	0,2017	0,1049
Lipídio*LF		0,1454	0,3992	0,1432	0,1462
Lipídio*AO		0,5579	0,6908	0,2262	0,1386
LF*AO		0,1572	0,1087	0,5873	0,7207
Lipídio*LF*AO		0,5561	0,8653	0,4882	0,7905

¹LF, lisofosfolipídios; AO, ácidos orgânicos; OS, óleo de soja; SB, sebo bovino; com, presença de lisofosfolipídios; sem, ausência de lisofosfolipídios; +, presença de ácidos orgânicos; -, ausência de ácidos orgânicos.

²Dados submetidos à transformação logarítmica.

³Dados submetidos à transformação arco seno. Valores apresentados em mg de vitamina por fígado.

⁴EPM, erro padrão da média.

23 DISCUSSÃO

O menor peso relativo do duodeno obtido com o sebo bovino, sem suplementação de ácidos orgânicos, poderia ser decorrente da menor digestão e saúde intestinal promovida por essas dietas. No entanto, algumas pesquisas desenvolvidas na área contrariam esses achados. Dänicke et al. (2000) observaram aumento no peso do intestino delgado em função de maiores inclusões de sebo bovino. O aumento do duodeno provocado pela inclusão de ácidos orgânicos em dietas com sebo bovino pode estar relacionado ao controle da microbiota, que se apresenta em maiores quantidades em dietas contendo sebo (DÄNICKE et al., 1999). No entanto, é importante apontar que pesquisas anteriores observaram decréscimo no peso do intestino delgado com a inclusão de ácidos orgânicos (VIOLA; VIEIRA, 2007). Já o maior comprimento do duodeno provavelmente ocorreu devido ao maior desenvolvimento corporal das aves que receberam dietas com óleo de soja.

O maior peso relativo do intestino grosso em dietas com sebo bovino, sem suplementação, pode ser decorrente do maior desenvolvimento e fermentação microbiana nessa porção. Foi demonstrado que o uso de antibióticos reduz o peso do intestino (MILES et al., 2006), levando a concluir que a alteração do peso do intestino está associada com a redução da microbiota. Alguns benefícios dos antibióticos foram relatados anteriormente, os quais podem provocar mudanças na morfologia do trato gastrointestinal, incluindo a redução da espessura da mucosa.

Os resultados microbiológicos indicaram que somente as fontes lipídicas imprimiram diferenças na microbiologia da digesta do jejuno, com maiores quantidades de microrganismos anaeróbios totais em frangos alimentados com sebo bovino. O crescimento bacteriano no jejuno pode levar à perda de sais biliares (KNARREBORG et al., 2002b), que são requeridos em altos níveis na digestão de lipídios, principalmente em situações de alta viscosidade (MAISONNIER et al., 2003). Smits et al. (1998) observaram aumento na contagem de anaeróbios totais no duodeno e jejuno em função de dietas com alta viscosidade contendo gordura animal rica em ácidos graxos saturados, associando o aumento da microbiota às perdas de sais biliares. Além do sebo bovino induzir perdas nas quantidades de sais biliares, por sua vez, esse é mais sensível às condições inadequadas da digestão (DÄNICKE et al., 1997).

Apesar dos efeitos dos lisofosfolipídios observados no Capítulo III sobre os cocos gram positivos e da comprovada ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos (ALAKOMI et al.,

2000; ABBAS et al., 2011), os aditivos avaliados, isolados ou associados, não influenciaram os resultados microbiológicos. Apesar do trigo favorecer o crescimento de patógenos intestinais (JIA et al., 2009; TEIRLYNCK et al., 2009b), e o sebo bovino promover um desafio microbiano adicional em relação ao óleo de soja (KNARREBORG et al., 2002a), não foi possível demonstrar nenhuma diferença significativa com a inclusão dos aditivos. É possível que a adição de sebo bovino, mesmo em dietas a base de trigo, não tenham oferecido desafio microbiano suficiente para que os aditivos pudessem expressar seus efeitos, já que esse é um pré requisito em avaliações de antimicrobianos (LILLIE; SIZEMORE; BIRD, 1953; COATES et al., 1963).

O incremento na contagem microbiológica induzida pelo sebo bovino pode ter prejudicado a digestão dos lipídios, diminuindo a absorção das vitaminas A e E. Os resultados sobre a concentração de vitaminas lipossolúveis demonstraram que o óleo de soja, independente da inclusão dos aditivos, melhorou os teores hepáticos das vitaminas A e E. Kanarreborg et al. (2004) evidenciaram que a absorção de compostos de α - e γ -tocoferol dependem de condições adequadas durante a digestão, associando, os melhores resultados encontrados com o óleo de soja, à relação existente entre baixas quantidades de *C. Perfringens* no intestino com maiores quantidades íntegras de sais biliares.

O sebo bovino possui maiores quantidade de ácidos graxos saturados, não polares e com ponto de fusão mais elevado em comparação aos ácidos graxos do óleo de soja. Essas características químicas interferem nas etapas da digestão, que é altamente dependente de uma boa emulsificação e formação de micelas (KROGDAHL, 1985). Dietas com alta viscosidade causam decréscimos na digestibilidade de lipídios, provavelmente devido ao efeito físico negativo que causa decréscimo na reabsorção e conseqüentemente na quantidade de sais biliares intestinais (MAISONNIER et al., 2003).

Seja pelo desafio microbiológico ou físico ocasionado pelos PNAs solúveis do trigo na digestão de lipídios, é provável que a formação de micelas tenha sido inferior nas dietas com sebo bovino, incidindo no aproveitamento de ambas as vitaminas estudadas neste trabalho. Os constituintes lipídicos da dieta são absorvidos em sua grande maioria via complexo micelar, explicando a alta influência da fonte lipídica das dieta sobre a concentração de vitaminas no fígado. Em dietas a base de centeio, rica em pentosanas solúveis, Dänicke et al. (1997) também encontraram maiores teores hepáticos de vitamina A em decorrência de dietas com óleo de soja em relação ao sebo bovino.

24 CONCLUSÃO

O óleo de soja proporciona maior saúde intestinal às aves, o qual incrementa o peso relativo de duodeno em relação ao sebo bovino, que, por sua vez, é aumentado com a adição de ácidos orgânicos. O comprimento do duodeno é maior em dietas com óleo de soja, independente da inclusão de aditivos.

A quantidade de cocos gram positivos é maior em dietas contendo sebo bovino. Já os teores hepáticos de vitaminas A e E são acrescidos pela melhor qualidade nutricional do óleo de soja. Nas condições experimentais apresentadas, os lisofosfolípidios e os ácidos orgânicos não apresentam efeitos significativos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, R. Z.; MUNAWAR, S. H.; MANZOOR, Z.; IQBAL, Z.; KHAN, M. N.; SALEEMI, M. K.; ZIA, M. A.; YOUSAF, A. Anticoccidial effects of acetic acid on performance and pathogenic parameters in broiler chickens challenged with *Eimeria tenella*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 99-103, 2011.
- ALAKOMI, H.-L.; SKYTTÄ, E.; SAARELA, M.; MATTILLA-SANDHOLM, T.; LATVA-KALA, K.; HELANDER, I. M. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 2001-2005, 2000.
- COATES, M. E.; FULLER, R.; HARRISON, G. F.; LEV, M.; SUFFOLK, S. F. A comparison of the growth of chicks in the gustafsson germ-free apparatus and in a conventional environment, with and without dietary supplements of penicillin. **British Journal of Nutrition**, v. 17, n. 1, p. 141-150, 1963.
- DÄNICKE, S.; JEROCH, H.; BÖTTCHER, W.; SIMON, O. Interactions between dietary fat type and enzyme supplementation in broiler diets with high pentosan contents: effects on precaecal and total tract digestibility of fatty acids, metabolizability of gross energy, digesta viscosity and weights of small intestine. **Animal Feed Science and Technology**, v. 84, n. 3-4, p. 279-294, 2000.
- DÄNICKE, S.; SIMON, O.; JEROCH, H.; BEDFORD, M. Interactions between dietary fat type and xylanase supplementation when rye-based diets are fed to broiler chickens 2. Performance, nutrient digestibility and the fat-soluble vitamin status of livers. **British Poultry Science**, v. 38, n. 5, p. 546-556, 1997.
- DÄNICKE, S.; VAHJEN, W.; SIMON, O.; JEROCH, H. Effects of dietary fat type and xylanase supplementation to rye-based broiler diets on selected bacterial groups adhering to the intestinal epithelium, on transit time of feed, and on nutrient digestibility. **Poultry Science**, v. 78, n.9, p. 1292-1299, 1999.
- JIA, W.; SLOMINSKI, B. A.; BRUCE, H. L.; BLANK, G.; CROW, G.; JONES, O. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. **Poultry Science**, v. 88, n. 1, p. 132-140, 2009.
- KNARREBORG, A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, S. K.; JENSEN, B. B. Quantitative determination of bile salt hydrolase activity in bacteria isolated from the small intestine of chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 6425-6428, 2002a.
- KNARREBORG, A.; LAURIDSEN, A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, A. K. Dietary antibiotic growth promoters enhance the bioavailability of α -tocopheryl acetate in broilers by altering lipid absorption. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 6, p. 1487-1492, 2004.
- KNARREBORG, A.; SIMON, M.A.; ENGBERG, R. M.; JENSEN, B. B.; TANNOCK, G. W. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 5918-5924, 2002b.

KROGDAHL, A. Digestion and absorption of lipids in poultry. **The Journal of Nutrition**, v. 115, n. 5. p. 675-685, 1985.

LILLIE, R. J.; SIZEMORE, J. R.; BIRD, H. R. Environment and stimulation of growth of chicks by antibiotics. **Poultry Science**, v. 32, n. 3, p. 466-475, 1953.

MAISONNIER, S.; GOMEZ, J.; BRÉE, A.; BERRI, C.; BAÉZA, E.; CARRÉ, B. Effects of microflora status, dietary bile salts and guar gum on lipid digestibility, intestinal bile salts, and histomorphology in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, n. 5, p. 805–814, 2003.

MILES, R. D.; BUTCHER, G. D.; HENRY, P. R.; LITTELL, R. C. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. **Poultry Science**, v. 85, n. 3, p. 476-485, 2006.

SMITS, C. H. M.; VELDMAN, A.; VERKADE, H. J.; BEYNEN, A. C. The Inhibitory Effect of carboxymethylcellulose with high viscosity on lipid absorption in broiler chickens coincides with reduced bile salt concentration and raised microbial numbers in the small intestine. **Poultry Science**, v. 77, p. 1534-1539, 1998.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. (SAS). Institute Inc. **User's Guide**. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc. 2012.

TEIRLYNCK, E.; BJERRUM, L.; EECKHAUT, V.; HUYGEBART, G.; PASMANS, F.; HAESBROUCK, F.; DEWULF, J.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. V. The cereal type in feed influences gut wall morphology and intestinal immune cell infiltration in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 102, n. 10, p. 1453-1461, 2009a.

TEIRLYNCK, E.; HAESBROUCK, F.; PASMANS, F.; DEWULF, J.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. V. The cereal type in feed influences *Salmonella* Enteritidis colonization in broilers. **Poultry Science**, v. 88, n. 10, p. 2108-2112, 2009b.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 1097-1104, 2007. Supplement.

CAPÍTULO VI

25 IMPLICAÇÕES

Algumas contradições foram observadas entre os experimentos com dietas a base de milho e trigo. O aumento da viscosidade intestinal em função da utilização de trigo acresce o desafio biofísico da digestão de lipídios, sobretudo de gorduras saturadas como o sebo bovino, representando, na teoria, uma situação favorável para que os efeitos dos aditivos sejam mais pronunciados. No entanto, as interações entre as fontes lipídicas e os aditivos testados foram muito mais evidentes em dietas com milho. Uma explicação razoável pode estar relacionada com a reutilização da cama no experimento com milho, que pode ter aumentado a pressão sanitária do experimento refletindo num maior desafio microbiano que acomete a digestão. Essa ideia sugere que a proliferação indesejada de microrganismos intestinais pode prejudicar mais a digestão dos lipídios do que barreira física que a água e a alta viscosidade dos polissacarídeos não-amiláceos (PNAs) solúveis podem provocar. Sugere-se a condução de alguns trabalhos no futuro que separem os efeitos deletérios originados pelo aumento da microbiota intestinal e pelo aumento da umidade intestinal que são provocados pelos PNAs, e suas possíveis interações, com o intuito de entender melhor as causas dos efeitos antinutricionais desses carboidratos solúveis tão discutidos na nutrição de aves. Porém, com relação a este trabalho, é importante fazer uma ressalva e destacar que essas observações com relação aos experimentos com diferentes cereais são apenas uma constatação empírica, pois não foi inserido no planejamento do trabalho uma comparação efetiva entre ambos.

As características químicas dos óleos e gorduras que incidem em melhores ou piores taxas de digestão são consideravelmente discutidas e evidenciadas. O comprimento da cadeia carbônica dos ácidos graxos influencia o ponto de fusão dos lipídios, que está muito relacionado com a pré-disposição emulsificante das moléculas de gorduras. É conhecido que, quanto maior for o comprimento da cadeia carbônica em ácidos graxos totalmente saturados, mais problemática será a ação dos agentes emulsificantes. O contrário se aplica para ácidos graxos insaturados, que apresentam menores pontos de fusão em decorrência do aumento da cadeia carbônica. No entanto, na revisão bibliográfica realizada durante a preparação deste trabalho, foi encontrado apenas um artigo em que é feita a avaliação exclusiva do efeito da cadeia carbônica sobre o aproveitamento dietético de lipídios. Em outras palavras, sabe-se que a cadeia carbônica interfere na digestibilidade mas esse efeito não foi mensurado de maneira isolada, independente de outros fatores. Adicionalmente, o artigo mencionado se trata de um

trabalho realizado com animais ruminantes, que não condiz com as condições de digestão de aves.

Temas relacionados ao nível de inclusão de lisofosfolipídios poderiam trazer contribuições ao uso desse aditivo em rações para frangos de corte, ainda mais como fonte de energia em dietas direcionadas às fases de crescimento e final. Em geral, informações sobre a matriz nutricional de aditivos pró-nutricionais são fornecidas pelos fabricantes, que, em muitos casos, desenvolvem pesquisas em condições bastante adversas. No mais, os lisofosfolipídios estão envolvidos em diversas funções do organismo, levantando a cautela sobre efeitos prejudiciais em grandes quantidades. Por isso, seria importante investigar o nível ideal de lisofosfolipídios como aditivo fornecedor de energia, bem como a quantidade de energia metabolizável que esse aditivo pode acrescentar na dieta.

Os resultados microbiológicos encontrados em decorrência dos lisofosfolipídios em dietas a base de milho demonstram que os mesmos podem ser uma alternativa viável, ou parcialmente viável, aos antibióticos melhoradores de desempenho, contornando os problemas gerados pela tendência na substituição de quimioterápicos. Porém, essas informações devem ser consideradas preliminares. Estudos relativos ao impacto dos lisofosfolipídios sobre a microbiota intestinal devem ser mais estudados e discutidos. Seria interessante conduzir pesquisas que abordassem os efeitos dos lisofosfolipídios sobre microrganismos específicos, como por exemplo o *Clostridium perfringens*, que é um microrganismo de amplo interesse zootécnico responsável por grandes prejuízos na avicultura e que é capaz de desconjugar os sais biliares.

A associação dos lisofosfolipídios com os ácidos orgânicos se mostrou bastante eficaz no aumento do teor de ácidos graxos polinsaturados da carcaça de frangos que se alimentaram com óleo de soja. Os ácidos orgânicos melhoraram os resultados de desempenho e digestibilidade, tanto nos experimentos com dietas a base de milho quanto nos experimentos com dietas a base de trigo, demonstrando o grande potencial desse aditivo para incrementar a produção. Apesar dos efeitos positivos que são demonstrados em estudos que avaliam aditivos alternativos, é preciso considerar a associação de um ou mais aditivos com efeitos que se complementam, assim como foi feito com prebióticos e probióticos, para explorar as potenciais sinergias entre os aditivos e, assim, tentar minimizar as perdas geradas pela forte tendência mundial em banir os antibióticos de rações animais.