

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JULIAN ANDRÉS MUÑOZ

**Glicosaminoglicanos e manganês influenciam o desempenho zootécnico e características de
carcaça, carne e ossos em frangos de corte**

Pirassununga

2022

JULIAN ANDRÉS MUÑOZ

Glicosaminoglicanos e manganês influenciam o desempenho zootécnico e características de carcaça, carne e ossos em frangos de corte

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Profa. Dra. Angélica Simone Cravo Pereira

Pirassununga

2022

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M967g Muñoz, Julian Andres
Glicosaminoglicanos e manganês influenciam o desempenho zootécnico e características de carcaça, carne e ossos em frangos de corte / Julian Andres Muñoz ; orientadora Angélica Simone Cravo Pereira ; coorientadora Cristiane Soares da Silva Araújo. - Pirassununga, 2022.
164 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Composição da carne. 2. desempenho. 3. metabolômica. 4. sulfato de condroitina. 5. tibiotarsos. I. Simone Cravo Pereira, Angélica, orient. II. Soares da Silva Araújo, Cristiane, coorient. III. Título.



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Glicosaminoglicanos e manganês influenciam o desempenho zootécnico e características de carcaça, carne e ossos em frangos de corte.", protocolada sob o CEUA nº 8401180618, sob a responsabilidade de **Angélica Simone Cravo Pereira** e equipe; *Julian Andres Muñoz* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - FZEA/USP (CEUA/FZEA) na reunião de 22/08/2018.

We certify that the proposal "Glycosaminoglycans and manganese influence the zootechnical performance and characteristics of carcass, meat and bone on broilers chickens.", utilizing 1152 Birds (1152 males), protocol number CEUA 8401180618, under the responsibility of **Angélica Simone Cravo Pereira and team; Julian Andres Muñoz** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Animal Science and Food Engineering - (São Paulo University) (CEUA/FZEA) in the meeting of 08/22/2018.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 07/2018 a 04/2020 Área: Zootecnia

Origem: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP)

Espécie: Aves sexo: Machos idade: 1 a 49 dias N: 1152

Linhagem: Cobb Peso: 40 a 50 g

Resumo: A produção avícola apresenta altos índices produtivos, no entanto, tem-se observado dificuldades que estão representando grandes perdas econômicas para a indústria, no que se refere às miopatias e os distúrbios na estrutura óssea das aves, anormalidades que podem estar associadas com deficiências no tecido conjuntivo, comprometendo nas células musculares o fornecimento de nutrientes e a remoção dos metabólitos ocasionando distúrbios iônicos. Pretende-se estudar o efeito da suplementação de GAGs (sulfato de condroitina) e manganês na dieta de frangos de corte devido a sua importância na matriz óssea, e assim, determinar como estes elementos influenciam as características produtivas, na qualidade de carne e óssea, além de identificar as diferenças entre a dieta que recebeu suplementação e a dieta controle por meio da metabólica. Serão utilizados 1152 pintos de corte machos da linhagem Cobb, alojados por 49 dias e distribuídos em DIC, sob esquema fatorial 4x3, sendo os fatores: quatro doses de sulfato de condroitina (0,00; 0,06; 0,12 e 0,18%) e três doses de manganês (0, 40 e 80 mg/kg), totalizando 12 tratamentos de oito repetições com 12 aves cada. As aves serão pesadas semanalmente e calculado o peso corporal, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, viabilidade criatória e o índice de eficiência produtiva. Aos 49 dias de idade, serão abatidas duas aves por unidade experimental e realizada a análise macroscópica dos peitos na desossa para identificar a presença da miopatia [white striping]. Em seguida, serão colhidas 5 g de amostra do músculo peitoral maior e armazenadas a - 80°C até processamento para análise comparativa entre as amostras pela análise metabólica. Será calculado o rendimento de carcaça e cortes comerciais: peito, coxas, sobrecoxas e asas. Será avaliada a qualidade da carne nos peitos por meio da determinação do pH, cor, medidas físicas (comprimento, altura e largura do peito), perda de peso por cozimento, força de cisalhamento, composição centesimal, colágeno total, e perfil de ácidos graxos. Para a qualidade de osso das tibias será realizada a análise macroscópica do osso, índice Seedor, densidade óssea, resistência óssea, perfil mineral e avaliação histopatológica da cartilagem articular.

Local do experimento: O experimento será conduzido no laboratório de avicultura da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Campus Fernando Costa □ Pirassununga, Localizado na Região Centro-Leste do estado de São Paulo.

Pirassununga, 11 de janeiro de 2019

Profa. Dra. Daniele dos Santos Martins
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo - FZEA/USP

Profa. Dra. Cristiane Gonçalves Titto
Vice-Cordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo - FZEA/USP

Nome: MUÑOZ, Julian Andrés

Título: Glicosaminoglicanos e manganês influenciam o desempenho zootécnico e características de carcaça, carne e ossos em frangos de corte

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Data de aprovação: ____ / ____ / ____

Banca examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

*A Deus, por ser o meu caminho, meu Norte e minha grande companhia.
A Minha mãe Berenice, mulher maravilhosa e que amo por ser o exemplo de determinação,
coragem e perseverança.
Aos meus irmãos sinônimos de boa energia, alegria e coração maravilhoso.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ser o meu grande companheiro neste caminho e por ser minha força na hora de encarar os desafios.

À minha mãe Berenice Muñoz por ser meu suporte, meu exemplo de fortaleza, determinação e ser o motor da minha vida.

À minha maravilhosa “família loca”, Isa, Oto, Gela, Pablo, JuanK, Lore, Mafe, Martin e Miguel Angel que com brincadeiras, alegria, bom humor e boa energia fizeram meus dias mais leves, tranquilos e felizes.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo pela oportunidade de realizar o meu doutorado, por ter me acolhido nestes anos e pela disponibilidade de infraestruturas e equipamentos necessários para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo pelo apoio em infraestrutura, laboratórios e pela oportunidade de aprimorar a minha formação científica e profissional.

Agradeço à CAPES "O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos (processo nº 2018/09012-5) e pelo auxílio financeiro para a execução deste projeto de pesquisa.

À minha orientadora Professora Dra. Angélica Simone Cravo Pereira pelos ensinamentos, paciência, confiança e todo o apoio para minha formação profissional e pessoal.

À minha co-orientadora Professora Dra. Cristiane Soares da Silva Araújo porque sempre atenciosa e paciente, esclareceu as minhas dúvidas e contribuiu para realização desta pesquisa.

A toda a equipe do Laboratório de ciência da carne (FMVZ/USP) Lenise, Adrielle, Taiane, Tamyres, Ingrid (Japa), Gabriella, Tainara, Jessica e Hellencris pela amizade e companhia em todo meu processo de doutorado, pela troca constante de conhecimentos e paciência em todas as minhas brincadeiras. Meninas sem vocês este trabalho teria sido bem mais difícil! Muito obrigado!

Agradeço especialmente a Cesar Garbossa, Pollyana Matioli e Inara Giroto, pessoas maravilhosas com as quais tive o prazer de conviver durante o meu processo de doutorado. Obrigado pelos conhecimentos, paciência, parceria e acolhimento nos momentos felizes e difíceis.

Aos meus estagiários Monica, Caio, Laura, Julia, Amanda, Ana, Gui, Gu e Inarai porque auxiliaram cada uma das etapas do meu ciclo de doutorado. Agradeço de coração pela ajuda principalmente quando sacrifiquei tempo de almoço ou ficamos até meia noite trabalhando. Pessoal vocês foram demais!

À Doutora Mirele D. Poleti pelos ensinamentos em novas áreas de pesquisa como ômicas aplicadas a ciência da carne e por sempre estar disposta a ajudar e contribuir nesta pesquisa.

À professora Dra. Silvana M. Baraldi-Artoni pelos ensinamentos, confiança e disponibilidade para realizar as análises de qualidade óssea no Laboratório de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP- Jaboticabal/SP.

Ao professor Dr. Ives Cláudio da Silva Bueno e à sua equipe de pesquisa no Laboratório de Fermentabilidade Ruminal (LFR) do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP) pela colaboração em infraestrutura e equipamentos durante períodos críticos em 2020. A eles, agradeço o apoio que foi muito importante para terminar esta pesquisa.

Ao professor Dr. Daniel R. Cardoso e à Doutoranda Priscila Marques. F. Dalle-Piagge do Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo pela colaboração análise de metabolômica e pela parceria em momentos difíceis em 2020. A eles, agradeço pela dedicação e contribuição nesta pesquisa.

Ao professor Dr. Douglas Emydio Defaria responsável pelo Laboratório de Avicultura (FZEA/USP) pelo apoio em infraestrutura e equipamentos, assim como por contribuir com

conhecimentos importantes que me ajudaram a crescer como profissional e como pessoa. Agradeço pela parceria e valiosos ensinamentos!

Aos funcionários Schmidt e Ricardo do LPGC, Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP/FMVZ/USP) pela amizade, atenção, respeito e colaboração em todos os meus projetos, sei que não foi fácil trabalhar com uma pessoa que sempre queria aumentar o serviço. Obrigado também pelos valiosos ensinamentos na área animal que com certeza, contribuíram na minha formação profissional e pessoal.

Às secretárias do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP/FMVZ/USP) à Sra. Fabia e à Sra. Alessandra pela amizade, paciência e ajuda em resolver problemas em todas as etapas do meu doutorado.

À equipe do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da (FMVZ/USP) por toda atenção e colaboração nas análises de qualidade de carne e ossos.

Aos funcionários da Fábrica de Ração e abatedouro da Prefeitura USP - Fernando Costa pela troca de conhecimentos, bom humor diário e pela sua participação em todas as etapas do meu doutorado.

Aos funcionários do Serviço de Pós-graduação (SVPGRAD) da FZEA/USP, principalmente a Sra. Erica e Sra. Maria Cecilia porque sempre se disponibilizaram a ajudar de maneira atenciosa e de bom humor para resolver todos os problemas que surgiram durante as etapas do meu doutorado.

Ao Grupo ADESTE e empresa EXTRASUL em especial, à Sra. Amanda Ramos e à Sra. Marilene Nuss Rangel por todo o suporte técnico e ajuda no fornecimento do sulfato de condroitina, um dos aditivos necessários para o desenvolvimento desta pesquisa.

À empresa NOVUS do Brasil em especial, à Sra. Raquel Araujo por todo o suporte técnico e ajuda no fornecimento do Manganês orgânico (MINTREX), um dos aditivos necessários para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço também a Nataly, Claudinho, Irailda, Edna, Mariane Beline, Gabis, Paulo (RU), Renata, Sandra e Andreia. Pessoas muito importantes que em tempos difíceis foram a minha companhia, apoio psicológico com risadas e que forneceram momentos inesquecíveis! Muito obrigado por fazer parte da minha vida!

Agradeço a todos os que de uma ou outra maneira contribuíram na elaboração deste trabalho.

“A vida é curta,
Quebre as regras,
Perdoe rápido,
Beije lentamente,
Ame de verdade,
Ria descontroladamente,
E nunca lamente nada
que tenha feito você sorrir!”

Anônimo

RESUMO

MUÑOZ, J. A. **Glicosaminoglicanos e manganês influenciam o desempenho zootécnico e características de carcaça, carne e ossos em frangos de corte.** 2022. 164f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2022.

Objetivou-se estudar o efeito da suplementação dietética de sulfato de condroitina (SC) e manganês (Mn) sobre o desempenho, características de carcaça e qualidade da carne e ossos de frangos de corte, além de identificar as mudanças nos perfis metabólicos relacionados ao desenvolvimento muscular e incidência da miopatia *white striping*. Foram alojados 1152 pintos machos Cobb, distribuídos em DIC em esquema fatorial 4x3: quatro doses de SC (0,00; 0,06; 0,12 e 0,18% p/p: kg de SC/kg de ração) e três níveis de Mn (0, 40 e 80 mg/kg), totalizando 12 tratamentos com 8 repetições de 12 aves cada. Realizou-se a análise das características de desempenho, rendimentos de carcaça e cortes, assim como foram colhidas amostras de músculo *pectoralis major* para verificar a presença de miopatia *white striping*, analisar a qualidade físicoquímica e morfometria. De igual forma, foram retirados os tibiotarsos para determinar a densidade, teor mineral, atributos morfométricos e número de condrócitos. Para a análise de metabolômica, oito amostras de peito dos frangos alimentados com a dieta de 0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn foram usadas como tratamento contrastante para determinar as diferenças no perfil metabólico de oito amostras do tratamento controle (0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn) por meio de espectroscopia de NMR¹H. Observou-se que independente dos níveis de SC ou Mn, os músculos peitorais apresentaram miopatia *white striping* moderada. Os níveis de suplementação de SC e Mn não influenciaram no desempenho aos 47 dias de idade das aves, assim como não afetaram o rendimento de carcaça, as características morfométricas, as perdas por cocção, maciez, o ácido oleico, docosahexaenóico, teor ácidos graxos saturados, o colágeno e a composição centesimal do músculo peitoral das aves (P>0,05). De igual forma, os níveis dos tratamentos não influenciaram a composição mineral, densidade óssea, teor de fósforo, manganês, peso absoluto, perímetro da diáfise e o número de condrócitos na cartilagem dos tibiotarsos (P>0,10). Verificou-se aumento no desempenho das aves até os 28 dias, conforme aumentou o nível de SC (P<0,05). Também o nível de 0,18% de SC aumentaram os rendimentos de peito, teor a*, b* e porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. A inclusão de SC, principalmente o nível de 0,12% de SC na dieta de frangos de corte aumenta o teor de ácidos graxos polinsaturados e diminui a luminosidade dos peitos (L*). De igual forma, a

suplementação de 0,12% de SC aumenta o índice Seedor, área óssea, pesos relativos e comprimentos, bem como a inclusão de 40 mg/kg Mn nas dietas de frangos de corte aumenta o teor de cálcio e área óssea ($P < 0,10$). A metabolômica permitiu identificar as vias relacionadas com a β - alanina, *adenosina trifosfato* (ATP), taurina e alanina, como as rotas metabólicas diferencialmente expressas ($VIP > 1$; Raw $P < 0,1$) entre os tratamentos. A suplementação de frangos com SC e Mn interage com o crescimento nas primeiras fases de vida das aves, assim como influencia a composição de lipídeos e índice trombogênico, sem afetar a composição química e atributos morfométricos do músculo peitoral. Além disso, na matriz óssea os aditivos podem mudar o teor de cálcio, resistência à quebra e atributos morfométricos. Por fim, o SC e Mn possivelmente contribuíram para a redução do estresse muscular, ativando metabólitos relacionados à proteção mitocondrial e reparo celular, diminuindo a degradação de proteínas musculares associadas à miopatia.

Palavras Chave: Composição da carne, desempenho, metabolômica, mineral, sulfato de condroitina, tibiotarsos.

ABSTRACT

MUÑOZ, J. A. **Glycosaminoglycans and manganese influence the performance, carcass, meat, and bones characteristics of broilers.** 2022. 164f. Doctoral Thesis – Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of Sao Paulo, 2022.

We aimed to evaluate the effect of dietary supplementation of chondroitin sulfate (CS) and manganese (Mn) on performance, carcass, meat, and bone quality characteristics of broilers. In addition, identify changes in metabolic profiles related to muscle development and incidence of white striping myopathy. A total of 1152 Cobb male chicks were housed for 47 days and distributed in a completely randomized design, in a 4 x 3 factorial arrangement: four doses of chondroitin sulfate (0.00, 0.06, 0.12, and 0.18%) and three levels of manganese (0, 40, and 80 mg/kg), totaling 12 treatments of eight replicates with 12 birds each. Performance characteristics and carcass yields were calculated. In the deboning process, breast samples were collected to verify the incidence of white striping myopathy and then assess the physicochemical quality and morphometry in pectoral muscle. Likewise, the tibiotarsus were removed to determine density, mineral content, morphometric attributes, and chondrocytes number. For the metabolomic analysis, eight breast samples from chicks receiving the diets of 0.12% CS and 80 mg/kg Mn and eight samples from the control treatment (0.00% CS with 0 mg/kg Mn) were collected, for determination of differences in the metabolic profile of by ¹H-NMR spectroscopy. It was observed that regardless of CS or Mn levels added to the diets, breasts were classified as having moderate white striping myopathy. The levels of CS and Mn did not influence the performance at 47 days old. The factors also did not affect carcass yield, morphometric characteristics, cooking losses, shear force, percentage of oleic acid, docosahexaenoic acid, saturated fatty acid content, collagen, and proximate composition of the pectoral muscles ($P>0.05$). Likewise, treatment levels did not influence the mineral composition, bone density, phosphorus and manganese content, absolute weight, diaphysis circumference, and the number of chondrocytes in the tibiotarsal cartilage ($P>0.10$). There was an increase in the performance of the birds up until 28 days, as the CS level increased ($P<0.05$). The 0.18% of CS increased breast yield, a*, b* content, and percentage of monounsaturated fatty acids. Diets with 0.12% CS increase the polyunsaturated fatty acids and decrease the breast's luminosity (L*). Likewise, supplementation with CS at 0.12% increases the Seedor index, bone area, relative weights, and lengths. Also, birds were fed 40 mg/kg Mn increased the calcium content and bone

area ($P < 0.10$). According to the $^1\text{H-NMR}$ data, the pectoral muscle of birds showed a metabolism towards the glycolytic pathways, with the presence of high concentrations of lactate, carnosine, creatine, and alanine. The supplementation of broilers with CS and Mn showed improvement in the growth of the birds, influencing the lipid composition and thrombogenic index of the pectoral muscle. In addition, the additives can change the calcium content, breaking strength, and morphometric traits of the bone structure of birds. Also, supplementation of broilers with CS and Mn possibly contributed to the reduction of breast muscle stress, activating metabolites related to mitochondrial protection and cell repair, and decreasing muscle protein degradation associated with myopathy.

Key words: Meat composition, performance, metabolomics, mineral, chondroitin sulfate, tibiotarsus.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação das estrias brancas	30
Figura 2 - Estrutura química do glicosaminoglicano	35
Figura 3 - Sulfato de Condroitina. (A) Condroitina-4-sulfato; (B) Condroitina-6-sulfato.....	36
Figura 4 - Aviário experimental do laboratório de avicultura VNP-FMVZ/USP	51
Figura 5 - Análises de miopatias white striping no músculo Pectoralis major	57
Figura 6 - Análises macroscópica (dimensões dos peitos).....	58
Figura 7 - Fotomicrografia da cartilagem articular de frangos de corte tratados com sulfato de condroitina e manganês. Observa-se populações de condrócitos dispostos em ilhas (grupos isógenos).....	117
Figura 8 - Gráfico da análise PCA para os metabólitos dos peitos de aves alimentadas com os tratamentos expeiemtais.	145
Figura 9 - Gráfico da análise PLS-DA, destacando a distribuição dos perfis metabólicos de peitos de frangos de corte de cada tratamento (controle e contrastante).....	146
Figura 10 - Gráfico de projeção da variável de importância (VIP) a partir de análises PLS-DA dos tratamentos contrastantes (Metabólitos diferencialmente expressos).....	147
Figura 11 - Análise das vias, usando todos os metabólitos que foram significativamente diferentes entre os grupos: Controle vs. Contrastante.	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estrutura dos principais dissacarídeos nos glicosaminoglicanos	35
Tabela 2 - Identificação das dietas experimentais	52
Tabela 3 - Resultado das condições ambientais do experimento	53
Tabela 4 - Composição percentual das dietas basais para cada fase experimental	54
Tabela 5 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 7 dias	64
Tabela 6 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 14 dias	65
Tabela 7 - Desdobramento das médias de peso corporal, ganho de peso e consumo de ração para frangos de corte no período de 1 a 14 dias de idade.....	66
Tabela 8 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 21 dias	67
Tabela 9 - Desdobramento das médias de peso corporal, ganho de peso e consumo de ração para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade.....	69
Tabela 10 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 28 dias	70
Tabela 11 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 35 dias	71
Tabela 12 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 42 dias	72
Tabela 13 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 47 dias	74
Tabela 14 - Desdobramento das médias de conversão alimentar para frangos de corte no período de 1 a 47 dias de idade.....	74
Tabela 15 - Médias observadas da análise de variância para as características de carcaça de frangos de corte aos 47 dias de idade	75
Tabela 16 - Desdobramento das médias dos rendimentos de asas (AS) e coxa (Cx)+ sobrecoxa (SCx) + pés para frangos de corte aos 47 dias de idade	76
Tabela 17 - Médias observadas nos resultados de qualidade física da carne de peitos de frangos de corte	79

Tabela 18 - Desdobramento das médias do potencial de Hidrogênio (pH) de peitos de frangos de corte	79
Tabela 19 - Médias observadas para qualidade química da carne de peitos de frango	81
Tabela 20 - Médias observadas para a análise morfométrica da carne de peitos de frango	82
Tabela 21 - Desdobramento das médias para largura dos peitos de frangos de corte aos 47 dias de idade suplementados com sulfato de condroitina e manganês na dieta.....	83
Tabela 22 – Composição de ácidos graxos saturados (%) da carne de peito de frangos.....	87
Tabela 23 – Composição de ácidos graxos monoinsaturados (%) da carne de peito de frangos .	89
Tabela 24 – Interação das médias do ácido graxo (%) C18:1 trans 10 e Nervônico (C24:1 cis 15) em peitos de frangos	90
Tabela 25 – Composição de ácidos graxos polinsaturados (%) da carne de peito de frangos	94
Tabela 26 – Interação das médias do ácido graxo (%) linolelaídico (C18:2 n6 trans) em peitos de frangos.	95
Tabela 27 – Índices de saúde e relação entre ácidos graxos da carne de peito de frangos.....	96
Tabela 28 - Médias observadas para os resultados de qualidade dos tibiotarsos	118
Tabela 29 - Desdobramento das médias para força máxima de quebra (FMQ, N) dos tibiotarsos de frangos de corte	120
Tabela 30 - Médias para material mineral e número de condrócitos de tibiotarsos de frangos de corte.	122
Tabela 31 - Médias observadas para qualidade física dos tibiotarsos de frangos de corte.....	123
Tabela 32 - Concentração de metabólitos identificados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR ¹ H).....	143
Tabela 33 - Principais vias metabólicas associadas com as diferenças entre os peitos de frangos de corte suplementados ou não com sulfato de condroitina.	148

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	23
1. INTRODUÇÃO	24
2. OBJETIVOS	26
2.1. OBJETIVO GERAL	26
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3. REVISÃO DE LITERATURA	27
3.1. Anormalidade muscular e esquelética na produção de frangos de corte	27
3.1.1. Fibras musculares e miopatias.....	28
3.1.2. Distúrbios metabólicos no sistema ósseo	32
3.2. Glicosaminoglicanos.....	34
3.2.1. Importância dos glicosaminoglicanos no tecido conjuntivo	36
3.2.2. Sulfato de condroitina	36
3.3. Manganês	37
3.4. Pesquisas com o uso de GAGs e manganês.....	38
REFERÊNCIAS	40
CAPITULO 2	46
1. INTRODUÇÃO	49
2. MATERIAL E MÉTODOS	51
2.1. Local, animais e delineamento experimental.....	51
2.2. Dietas experimentais.....	53
2.3. Desempenho, abate e coleta de amostras.....	55
2.4. Qualidade de carne de peito.....	56
2.4.1. Análises de qualidade físicas e química de peitos de frangos de corte	57

2.4.1.1.	Análise macroscópica do peito.....	57
2.4.1.2.	Potencial de hidrogênio (pH)	58
2.4.1.3.	Análise da Cor	58
2.4.1.4.	Perdas de peso por cocção.....	58
2.4.1.5.	Força de cisalhamento	59
2.4.1.6.	Composição centesimal das amostras de peito	59
2.4.1.6.1.	Matéria seca.....	59
2.4.1.6.2.	Proteína bruta (nitrogênio)	59
2.4.1.6.3.	Cinzas da carne (material mineral).....	60
2.4.1.6.4.	Lipídios totais	61
2.4.1.6.5.	Perfil de ácidos graxos.....	61
2.4.1.6.6.	Colágeno total e solúvel	62
2.5.	Análise estatística	63
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
3.1.	Avaliação do desempenho	64
3.2.	Avaliação das características de carcaça.....	75
3.3.	Qualidade física e química da carne	77
4.	CONCLUSÕES	98
	REFERÊNCIAS	98
	CAPITULO 3	106
1.	INTRODUÇÃO	109
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	110
2.1.	Local, animais e delineamento experimental.....	110
2.2.	Dietas experimentais.....	111
2.3.	Abate e coleta de amostras.....	113
2.4.	Qualidade dos tibiotarsos.....	113

2.4.1.	Análise morfométrica dos tibiotarsos.....	113
2.4.2.	Índice Seedor.....	114
2.4.3.	Densidade mineral óssea.....	114
2.4.4.	Resistência óssea.....	114
2.4.5.	Material mineral dos tibiotarsos.....	115
2.4.6.	Perfil mineral dos tibiotarsos.....	115
2.4.7.	Avaliação histológica de cartilagem da epífise proximal.....	116
2.4.7.1.	Quantificação do número de condrócitos.....	116
2.5.	Análise estatística.....	117
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	118
4.	CONCLUSÕES.....	125
	REFERÊNCIAS.....	126
	CAPÍTULO 4.....	131
1.	INTRODUÇÃO.....	134
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	136
2.1.	Local, aves e delineamento experimental.....	136
2.2.	Dietas experimentais.....	137
2.3.	Abate e coleta de amostras.....	139
2.4.	Análise metabolômica.....	139
2.4.1.	Extração dos metabólitos polares da carne.....	140
2.4.2.	Identificação e quantificação de metabólitos por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR ¹ H).....	140
2.5.	Análise de dados.....	141
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	142
4.	CONCLUSÃO.....	156

REFERÊNCIAS	157
CONCLUSÃO GERAL	163
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	164

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO ATUALIZADA

1. INTRODUÇÃO

A avicultura industrial destaca-se como um dos segmentos mais organizados e avançados, em termos de utilização de tecnologias do agronegócio brasileiro. Esta evolução contribuiu efetivamente para que o Brasil apresente no cenário mundial da última década, aumentos na produção e exportação de carne de frango em 9,7% e 16,9%, respectivamente (ABPA, 2022). No entanto, se por um lado houve aumento de produção e exportação, esta evolução resultou em problemáticas associadas à alta velocidade do crescimento, podendo citar os defeitos no sistema musculoesquelético de frangos de corte selecionados geneticamente.

O desenvolvimento muscular do frango moderno é tão acelerado que o aumento do diâmetro das suas fibras, reduz o espaço disponível para o desenvolvimento do tecido conjuntivo afetando o fluxo sanguíneo, comprometendo o fornecimento de nutrientes e a remoção dos metabólicos que são produzidos pelas fibras musculares (VELLEMAN, 2015). Em consequência, a falta de remoção destes metabólicos ocasiona distúrbios iônicos, que conduzem ao surgimento das miopatias (SOSNICK, 1993).

As miopatias são anormalidades ou distorções principalmente nos peitos dos frangos de corte, um exemplo é a *white striping* (WS) caracterizada pela ocorrência de estrias brancas paralelas à direção das fibras musculares do peito (*Pectoralis major*). Registros de sua incidência na indústria variam de 12% a 95% de incidência em aves abatidas com 61 dias de idade (OWENS, 2014; PETRACCI et al., 2013). Segundo Huang e Ahn (2018), a incidência de WS severa aumentou dramaticamente nos últimos anos, passando de uma média de 5% dos peitos acometidos em 2012, para aproximadamente 29% em 2015 e 75,5% em 2017, tornando-se um problema de importância na qualidade da carne.

A WS prejudica principalmente a aparência da carne, mas dependendo do grau de severidade, pode afetar a qualidade física da carne, uma vez que não permite a queda normal do pH, sendo característico o pH alto (MUDALAL et al., 2015; PETRACCI et al., 2013; TROCINO et al., 2015), reduz a capacidade de reter água, aumenta as perdas por gotejamento e coesão fraca entre as fibras (MUDALAL et al., 2015; PETRACCI et al. 2013), aumenta a maciez da carne e modifica a cor dos peitos (ALNAHHAS et al., 2016; PETRACCI et al., 2013). De igual maneira, a miopatia WS exibe aumentos no teor de gordura, umidade e diminui proteína em comparação aos os músculos classificados como normais (PETRACCI et al., 2019). A WS também está relacionada com altos níveis de ácidos graxos monoinsaturados, assim como diminuição nos teores de minerais, ácidos graxos saturados e polinsaturados

(KUTTAPPAN et al., 2012b; 2013b; SOGLIA et al., 2016).

De acordo com Kuttappan et al. (2016) as miopatias causam elevado prejuízo econômico para o setor avícola, visto que as alterações na qualidade física da carne influenciam o consumidor na seleção inicial e satisfação final do produto, podendo resultar em uma perda anual de \$ 200 milhões ou mais para a indústria de aves, nos EUA.

Em relação ao tecido ósseo dos frangos de corte, as anormalidades podem ser resultado de crescimento desuniforme da placa de crescimento ou posição anormal das pernas, causado pela tensão do músculo ou tendão sobre as articulações ou osso, conduzindo ao desalinhamento ou deformação à medida que os ossos crescem (Julian, 2005). Segundo Van Wyhe et al. (2012) os distúrbios metabólicos nos ossos estão em aumento, sendo as principais doenças a discondroplasia tibial, as fraturas do fêmur e as deformidades ósseas. A incidência das doenças é tipicamente inferior a 2 ou 3%. Porém, muitos mais frangos de corte são subclínicamente afetados, com mudanças nos padrões de marcha e redução da capacidade de caminhada, o que resulta em prejuízos no desempenho e condenações de carcaça (OVIÉDO-RONDÓN et al., 2009), acarretando altas perdas financeiras que variam entre 10 a 40% do lucro bruto (ALMEIDA-PAZ, 2008a).

Neste sentido, e ao analisar a problemática relacionada com tecidos conjuntivos que apresentam algum sinal de dano, os glicosaminoglicanos (GAGs) tornam-se importantes, pois podem auxiliar no reestabelecimento da matriz extracelular de tecidos conjuntivos. Isto é possível visto que os GAGs são frequentemente o principal sítio de atividade biológica dos proteoglicanos, moléculas que agem como organizadores de tecidos e influenciam várias atividades celulares, como a adesão intercelular, na proliferação e na diferenciação celular (NELSON; COX, 2014). A principal aplicação dos GAGs é o tratamento da osteoartrite, doença articular degenerativa que atinge pessoas e animais, ao reduzirem a perda de proteoglicanos e de colágeno, e ao inibirem enzimas degradativas da cartilagem, mecanismos que refletem no aumento da proliferação dos condrócitos e biossíntese da matriz óssea.

A ação GAGs pode ser auxiliada pela presença de manganês (Mn), uma vez que este atua como cofator para a arginase, uma enzima transaminase que converte arginina em ornitina e ureia, dois produtos necessários para a síntese de colágeno, o principal componente dos ossos e cartilagem. Conforme Reece (2006), o manganês também é o cofator requerido para diversas enzimas como galactotransferase e glicosiltransferase, necessárias para produção cartilagem e substância óssea básica (mucopolissacarídeos e glicoproteínas).

Têm-se observado na literatura que os estudos avaliando o efeito sinérgico dos GAGs e manganês na dieta de frangos de corte ainda não têm sido bem elucidados. Portanto,

pretendeu-se verificar como a suplementação de sulfato de condroitina (GAG) e manganês interagem no desenvolvimento do tecido conjuntivo, retardando ou diminuindo a ação degenerativa, que origina as miopatias ou alterações patológicas na estrutura óssea das aves, sem afetar o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Objetivou-se verificar como a suplementação de sulfato de condroitina (GAG) e manganês interagem na estrutura óssea, desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne de frangos de corte.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

De modo específico objetivou-se conhecer o efeito da suplementação com sulfato de condroitina e manganês sobre o crescimento das aves e desenvolvimento muscular das aves.

Identificar se a suplementação com sulfato de condroitina e manganês evita ou diminui a incidência de miopatia “*white striping*” no músculo peitoral de frangos de corte.

Verificar se há alteração na qualidade física e química da carne de peito após suplementação de sulfato de condroitina e manganês na dieta de frangos de corte.

Analisar se o sulfato de condroitina e o manganês alteram o desenvolvimento ósseo e atuam na prevenção de patologias na estrutura óssea das aves.

Verificar a ação dos aditivos na morfometria dos ossos e número de células do tecido cartilaginoso.

Identificar os metabólitos diferentemente abundantes no peito de frangos e sua relação com a suplementação de sulfato de condroitina e manganês na dieta das aves.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. *Anormalidade muscular e esquelética na produção de frangos de corte*

A avicultura é uma área do setor agropecuário de contínuo progresso, sendo verificado na última década, aumento de 9,7% na produção e 16,9% na exportação de carne de frango (ABPA, 2022). O sucesso da indústria avícola é produto da contribuição científica e tecnológica de diferentes áreas como genética, nutrição, sanidade, ambiência, entre outras. O melhoramento genético das aves destaca-se, visto que proporcionou em torno de 80 a 85% à melhora no desempenho, permitindo abater animais na metade do tempo, com um peso corporal superior em quatro vezes o peso das aves no início da década de 1950 (RUTZ et al., 2017). As novas linhagens apresentaram aumento de 80% no rendimento de peito (*Pectoralis major*), anualmente exibiram aumentos de 30,2 g no ganho de peso, melhora em 0,036% na conversão alimentar, diminuição do 0,05% na mortalidade e a condenação de carcaças reduziu de 1,79% para 0,24% (RUTZ et al., 2017).

Por outro lado, o progresso genético, que trouxe avanços no desempenho de frangos de corte, tem gerado efeitos colaterais adversos, pois a seleção para o crescimento da massa muscular peitoral tem sido realizada por meio da hipertrofia das fibras musculares, resultando em aumento do diâmetro das mesmas, diminuição do espaço disponível para o tecido conjuntivo e aumento na degeneração muscular (VELLEMAN, 2015). Isto sugere que a seleção para crescimento rápido resulta em maior desenvolvimento da fibra muscular, do que o do seu tecido de sustentação (o tecido conjuntivo) (RUTZ et al., 2017). O tecido conjuntivo que não consegue acompanhar o desenvolvimento das fibras musculares pode perder as suas propriedades de unir e manter ligadas as diversas partes do organismo, dificultando seu papel na defesa, atuando como barreira frente aos agentes infecciosos e, no músculo, limitando a troca de nutrientes e produtos do metabolismo celular (MONTANARI, 2016).

De acordo com Velleman (2015), as alterações morfológicas limitam o suporte sanguíneo e, conseqüentemente, alteram a qualidade da carne. A diminuição do fluxo sanguíneo compromete o fornecimento de nutrientes e a remoção dos metabólicos que são produzidos pelas fibras musculares. A falta de remoção destes metabólitos ocasiona distúrbios iônicos, e em consequência a essas situações, surgem miopatias e necroses da fibra muscular (SOSNICK, 1993) sendo que os músculos da região do peito são os mais suscetíveis a apresentarem alterações histopatológicas (SOIKE; BERGMANN, 1998).

Outra problemática associada à velocidade do crescimento das aves e seu aumento na deposição de tecido magro, são os distúrbios metabólicos no sistema ósseo que originam doenças como a discondroplasia tibial, as fraturas do fêmur e o aumento nas deformidades ósseas (VAN WYHE et al., 2012). A incidência de distúrbios das pernas visíveis é tipicamente inferior a 2 ou 3%, mas muitos mais frangos de corte são subclínicamente afetados, apresentando mudanças nos padrões de marcha e redução da capacidade de caminhada, resultando em efeitos prejudiciais para a conversão alimentar, crescimento e até mesmo condenações de carcaça (OVIEDO-RONDÓN et al., 2009), acarretando altas perdas financeiras que variam entre 10 a 40% do lucro bruto (ALMEIDA-PAZ, 2008a).

De maneira geral, conforme o descrito por Nelson e Cox (2014) e Montanari (2016), a matriz extracelular comprometida, dificulta a união das células nas vias porosas, limitando a difusão dos nutrientes e do oxigênio, pode-se considerar que o tecido conjuntivo imaturo não apresenta adequado desenvolvimento da matriz celular conduzindo às anormalidades na carne e nos ossos nas novas linhagens de frangos de corte.

3.1.1. Fibras musculares e miopatias

Nas aves, três tipos de fibras musculares podem ser identificados com base nas suas características metabólicas e contráteis: tipo I - contração lenta e oxidativa (SO), tipo IIA - contração rápida e oxidativa (FOG) e tipo IIB - contração rápida e glicolítica (FG) (BANKS, 1992; PETER et al., 1972). Nas poedeiras e frangos de corte, o músculo peitoral, de cor branca, tem predominantemente fibras FG e FOG e, histologicamente, apresenta-se com pequena densidade de capilares sanguíneos e contém pequeno número de mitocôndrias. Os músculos vermelhos, da coxa e sobrecoxa, por outro lado, são ricamente vascularizados e com grande número de mitocôndrias em suas fibras, principalmente do tipo SO e FOG (MACARI et al., 1994).

No entanto, nas últimas décadas, a fim de atender à crescente demanda mundial por carne, programas de seleção têm sido realizados para melhorar as características de produção de frangos de corte e desenvolver linhagens de alta taxa de crescimento e produção de peito (PETRACCI et al., 2019). Porém, a seleção genética para aumento de massa muscular peitoral contribuiu para a predominância de fibras do tipo IIB, com hiperplasia das miofibras, aumento no diâmetro e no seu comprimento. Esse quadro reduziu a capacidade de utilização de oxigênio pelo tecido muscular (PETRACCI et al., 2019). Além disso, Huang e Ahn (2018), Velleman e Nestor (2003) descreveram que as fibras do tipo IIB podem causar lesões devido a sua maior

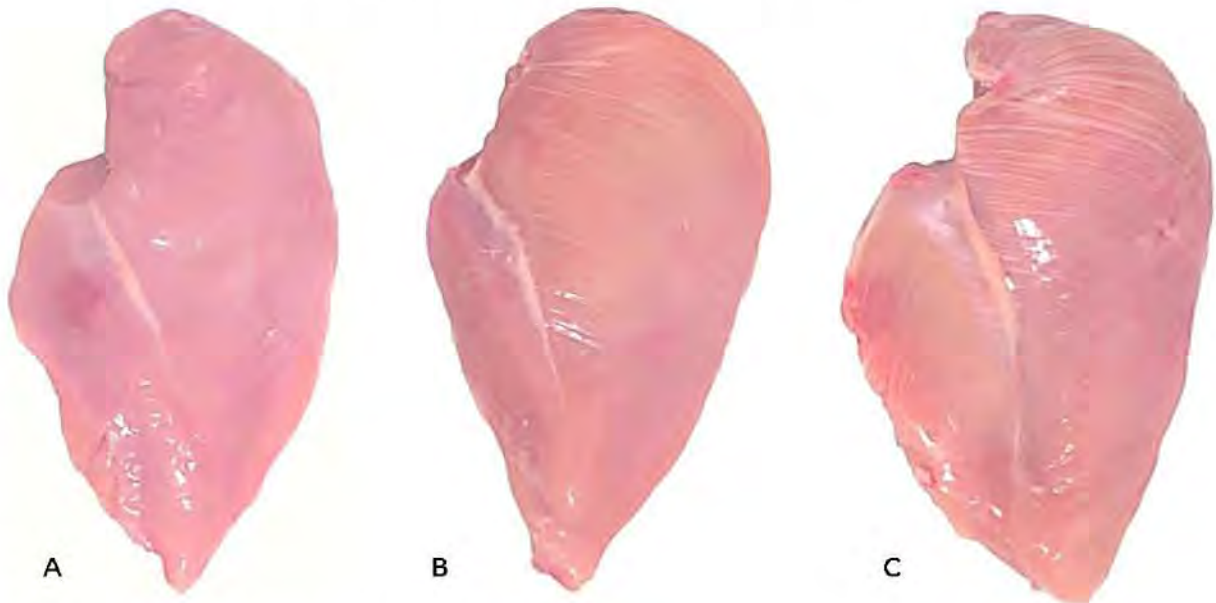
atividade glicolítica e, principalmente, pelo tamanho das fibras musculares que reduzem o espaço do endomísio e perimísio, resultando na diminuição da densidade da rede capilar.

Fibras musculares com maior diâmetro e área transversal, assim como vascularização inadequada, induzem estresse metabólico porque as maiores distâncias de difusão de oxigênio, metabólitos e produtos residuais tornam difícil o fornecimento de oxigênio, bem como a remoção dos resíduos metabólicos e o início de danos musculares (ALNAHHAS et al., 2015; ALNAHHAS et al., 2016; MacRAE et al., 2006). Os baixos níveis de oxigênio e nutrientes do sangue durante o período isquêmico ocasionam inflamação e estresse oxidativo, em vez de restaurar a função normal dos tecidos. O reabastecimento de fluxo sanguíneo e oxigênio para as células isquêmicas leva ao aumento do dano às proteínas celulares e às membranas plasmáticas devido à produção de superóxido pelo sistema xantina-xantina oxidase e à deficiência de enzimas necrófagas para remover o superóxido e outras espécies reativas de oxigênio (ROS) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990). Um excesso de ROS dentro do tecido muscular está envolvido no início dos mecanismos inflamatórios associados às anormalidades dos músculos como as miopatias (MUTRYN et al., 2015).

As miopatias são anormalidades frequentes nos músculos peitorais dos frangos de corte e associadas à degeneração e atrofia de fibras musculares. Uma das miopatias comuns de serem observadas é a *white striping* caracterizada pela ocorrência de estrias brancas paralelas à direção das fibras musculares do peito (*Pectoralis major*), e em menor grau, nas sobrecoxas e filezinho do peito (*Pectoralis minor*) dos frangos (BAUERMEISTER et al., 2009).

De acordo com Kuttappan et al. (2012a), este fenômeno de etiologia desconhecida é classificado em três tipos de estrias brancas. Os peitos classificados como normais (**NORM**) são aqueles que não apresentaram estrias aparentes; moderado (**MOD**), estrias visíveis no músculo e inferiores a um (1) mm de espessura e severo (**SEV**), com estrias superiores a um (1) mm e facilmente observadas na superfície do músculo e paralelas às fibras musculares (Figura 1.).

Figura 1 - Classificação das estrias brancas



A: Normal; B: Moderada; C: Severa

Fonte: KUTTAPPAN, V. A. et al. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat varying degrees of white striping. **Poultry Science**. Cary, v. 91, n.5, p.1240-1247, 2012a.

Os registros da incidência na indústria da miopatia *white striping* variam de 12% a 30% (OWENS, 2014; PETRACCI et al., 2013), podendo chegar a 95% em aves abatidas com 61 dias de idade (OWENS, 2014). No nível de pesquisa, estudos como o de Petracci et al. (2013) descreveram que a presença de *white striping* nos filés de peito foi de 12,0% (8,9 e 3,1% em grau moderado e severo, respectivamente), quando avaliados aos 45 e 54 dias de idade. Kuttappan et al. (2013a) relataram que aproximadamente 55,8% das aves utilizadas no estudo apresentaram algum grau de *white striping*, sendo de categoria moderada (47,5%) e severa (8,3%), com aves de corte entre 59 e 63 dias de idade. Isto sugere, conforme Bauermeister et al. (2009) e Kuttappan et al. (2013a), que o aumento da incidência e severidade da *white striping* estão relacionados com maior idade, aumento na taxa de crescimento, peso corporal e ao tamanho do peito dos frangos de corte. Assim, as taxas de crescimento rápido nos frangos de corte podem resultar em dano muscular e aumento da incidência e gravidade da *white striping*.

A anomalia *white striping* afeta os principais quesitos de qualidade da carne de aves, prejudicando a aparência do produto, como descreveram Kuttappan et al. (2012a) no estudo da análise de aceitação do consumidor, com relação à severidade da miopatia no filé do peito. Estes autores observaram que o 50 % dos consumidores consultados não comprariam a carne se ela estivesse definida como filés de estrias de graus moderado ou severo, concluindo que este fenômeno afeta a aceitação do produto.

Vários estudos relacionam a *white striping* com o aumento da ocorrência de problemas na qualidade da carne, como pH mais alto do que peitos considerados normais (ALNAHHAS et al., 2016; BRAMBILA et al., 2016; MUDALAL et al., 2015; PETRACCI et al., 2013; TROCINO et al., 2015), capacidade reduzida da carne em manter a água durante o processamento e armazenamento, bem como aumentos nas perdas por gotejamento e coesão fraca (tendência à separação de feixes de fibras musculares) (MUDALAL et al., 2015; PETRACCI et al., 2013) relacionada à imaturidade do tecido conjuntivo intramuscular.

De acordo com Petracci et al. (2019) os efeitos das miopatias sobre a qualidade química e física da carne podem ser mais evidentes conforme aumenta o nível de severidade da anormalidade. Petracci et al. (2013) encontraram valores de força de cisalhamento mais baixos em amostras com WS severa do que em peitos com WS normais e moderadas. Brambila et al. (2016) avaliando as propriedades de textura de peitos com miopatia WS, identificaram que filés de peito cozidos (78°C) afetados por WS severa, receberam pontuações mais altas de coesão, dureza e mastigabilidade do que as amostras WS normais e moderadas avaliadas em painel de provadores treinados. Além disso, recentemente, Baldi et al. (2018) observaram que as modificações de cor nos peitos com WS, verificando aumentos no croma b^* e diminuiu a teor de vermelhos a^* na camada superficial do músculo (0,3 cm), enquanto nas camadas mais profundas os autores observaram aparência semelhante aos peitos classificados como normais. De igual forma, Alnahhas et al. (2016) e Petracci et al. (2013) verificaram efeitos nas características de cor conforme aumento na severidade da miopatia WS, sendo apresentadas altas L^* e b^* principalmente em peitos classificados com miopatia severa.

Em relação à qualidade química da carne, Petracci et al. (2019) descreveram que a maioria dos estudos infere que carnes de peito com miopatias exibiram uma quantidade maior de gordura, umidade e menos proteína do que os músculos classificados como normais. No entanto, alguns estudos em perus observaram efeitos no teor de minerais, em que os peitos acometidos com WS moderada apresentaram redução no teor de cinzas quando comparados com peitos normais (SOGLIA et al., 2018). Mudalal et al. (2014) e Petracci et al. (2014) verificaram incrementos no teor de colágeno com cada grau de severidade da miopatia. Por fim, na análise dos ácidos graxos em peitos de frangos de corte, foi identificado que a miopatia WS reduz a concentração de ácidos graxos saturados (KUTTAPPAN et al., 2012b; 2013b; SOGLIA et al., 2016), aumenta a concentração de graxos monoinsaturados e reduz os ácidos de polinsaturados conforme aumenta a severidade da anormalidade peitoral (KUTTAPPAN et al., 2012b; 2013b).

A importância de avaliar e minimizar a presença das miopatias, é diminuir o prejuízo econômico destas anormalidades emergentes sobre a cadeia produtiva de carne de aves, que segundo Petracci et al. (2019), acarreta perdas por condenação dos cortes ou carcaça inteira, reduz o rendimento, qualidade física e valor nutricional, aumenta os custos para avaliação e verificação da miopatia nas linhas de desossa dos frigoríficos e incrementa a rejeição por parte dos consumidores devido a propriedades sensoriais indesejáveis.

Cabe ressaltar que no Brasil a presença das estrias brancas (*White Striping*) não são mais consideradas miopatia e sim estado anormal da musculatura, sendo excluídos os músculos peitorais da aplicação das condenações, podendo seguir o fluxo normal de processo e ser comercializados como carne *in natura* na forma em que se apresenta, segundo o OFÍCIO-CIRCULAR Nº 17 do MAPA (2019). Contudo, os prejuízos registrados sobre a qualidade física e química da carne de peito, assim como a marcante alteração da aparência., tornam-se fatores determinantes para a rejeição e perda do valor econômico do produto.

3.1.2. Distúrbios metabólicos no sistema ósseo

O crescimento de ossos curtos e longos em frangos de corte pode ocorrer por meio do processo de ossificação endocondral, onde a cartilagem serve como molde para a formação do tecido ósseo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). O processo ocorre em dois estágios, onde primeiro há redução e mineralização da matriz cartilaginosa, assim como proliferação e morte dos condrócitos por apoptose, deixando cavidades, que em seguida serão preenchidas por capilares sanguíneos e células osteogênicas que se diferenciam em osteoblastos que depositam matriz óssea sobre a cartilagem calcificada, transformando tecido cartilaginoso em tecido ósseo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Contudo, as fases de formação de tecido ósseo foram afetada com a introdução da genética no sistema de produção de frangos de corte, visto que houve aumento desproporcionalmente os músculos e conseqüentemente incremento no peso corporal, porém sem modificações nos mecanismos envolvidos no crescimento do esqueleto, criando-se desbalanço na relação músculo-osso e em contrapartida, a estrutura óssea ainda em formação, perde rigidez e força, facilitando o aparecimento das deformidades ou disfunções do sistema locomotor (EDWARDS, 2000).

Os efeitos negativos na qualidade óssea são associados ao desenvolvimento inadequado da matriz celular dos tecidos conjuntivos imaturos. A falta de suporte (matriz celular) não permite bom desenvolvimento do sistema lacuno-canicular dos osteócitos. Sem essas projeções celulares, a comunicação dessas células com vasos sanguíneos bem como entre células ósseas

fica prejudicada, limitando a difusão dos nutrientes e do oxigênio conduzindo a pouco desenvolvimento do tecido ósseo compacto (NELSON e COX, 2014; MONTANARI, 2016).

Desta forma, como o frango de corte, até a idade do abate, encontra-se ainda em fase de crescimento, possui ligamentos, tendões e ossos relativamente imaturos com pouco desenvolvimento do tecido ósseo compacto (ALMEIDA-PAZ et al., 2008b). Condições estruturais que não tem a capacidade de aguentar o aumento de peso proporcionado pelo rápido crescimento do frango de corte, conduzindo à incidência de anormalidades no sistema ósseo que provocam claudicações e queda no desempenho devido ao retardo no desenvolvimento das aves, uma vez que estas apresentam dificuldades para se alimentar e beber água, tornando-se frágeis e mais leves (ALMEIDA-PAZ, 2008a). Não obstante, os distúrbios ósseos aumentam a ocorrência de condenações de carcaças causadas por lesões no peito devido ao maior contato destes com a cama de aviário, o que causa calos, hematomas e lesões na pele (ALMEIDA-PAZ, 2008a). Waters e Mulroy (1999) relataram que, dependendo do grau de claudicação que a ave apresenta o gasto adicional de energia utilizado para a locomoção pode ser de 20 a 60% em relação ao gasto fisiológico normal do organismo. O resultado é a menor quantidade de energia disponível para o crescimento e conseqüente redução do desempenho das aves.

Existem numerosos distúrbios esqueléticos que foram descritos, entretanto, os problemas esqueléticos mais prevalentes em frangos de corte foram identificados como discondroplasia tibial, claudicação dolorosa crônica, condrodistrofias ou deformidades ósseas angulares, deformidades como *valgus* - *varus* (comumente conhecidas como perna torcida), espondilolistese ou dor nas costas, necrose da cabeça do fêmur ou degeneração femoral, dedos curvados e ruptura do tendão gastrocnêmio (ANGEL, 2007).

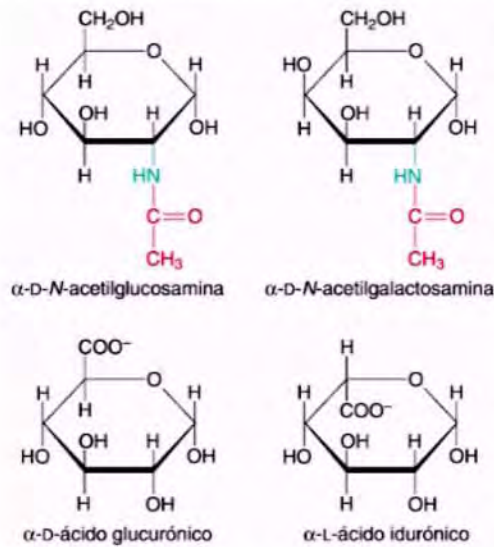
A discondroplasia tibial é a anormalidade óssea de maior prevalência na produção de frango de corte (ANGEL, 2007). Esta anomalia caracteriza-se por uma massa de cartilagem logo abaixo da placa epifisária, também chamada de linha de crescimento ósseo, localizado na metáfise proximal do tibiotarso. Trata-se de um acúmulo de cartilagem pré-hipertrófica, ou de condrócitos não diferenciados que conferem tal característica (CRESPO; SHIVAPRASAD, 2003). Além disso, esta anormalidade pode se manifestar em até 30% das aves dos lotes de forma subclínica e até 3% na forma clínica, ou seja, a grande maioria dos animais com discondroplasia não apresentam claudicação (POWELL; BITTAR FILHO, 2008). A principal causa da discondroplasia tibial é o crescimento rápido. No entanto, fatores ligados à genética e à nutrição, como, excesso de fósforo, deficiência em cobre, baixas inclusões de vitamina D e outros, podem pré-dispor ao aparecimento da enfermidade (LEACH; MONSONEGO-ORNANT, 2007).

De acordo com Franco et al. (2004), o tamanho da lesão é proporcional ao enfraquecimento do osso, tornando-o mais vulnerável à fratura ou a necrose. Além disso, o osso cresce de forma irregular, sobrecarregando o tendão gastrocnêmio, desencadeando em um processo inflamatório e doloroso, interferindo no bem-estar animal.

De maneira geral, a incidência de distúrbios das pernas visíveis é tipicamente inferior a 2 ou 3%, mas muitos mais frangos de corte são subclínicamente afetados, apresentando mudanças nos padrões de marcha e redução da capacidade de caminhada, resultando em efeitos prejudiciais para a conversão alimentar, crescimento e até mesmo condenações de carcaça (OVIDO-RONDÓN et al., 2009), acarretando altas perdas financeiras que variam entre 10 a 40% do lucro bruto (ALMEIDA-PAZ, 2008a).

3.2. Glicosaminoglicanos

Os glicosaminoglicanos são polissacarídeos lineares constituídos por resíduos repetitivos de dissacarídeos de *ácido urônico* (geralmente o ácido D-glicurônico ou o ácido L-idurônico) e de *N-acetilglicosamina* ou *N-acetilgalactosamina* (Figura 2). Em alguns glicosaminoglicanos uma ou mais das hidroxilas do açúcar aminado estão esterificadas com sulfatos. Os grupos carboxilato e os grupos sulfato contribuem para a alta densidade de cargas negativas dos glicosaminoglicanos (MOTTA, 2005). Tanto a carga elétrica como a sua estrutura macromolecular colaboram na função biológica de lubrificar e manutenção de tecido conjuntivo. Esses compostos formam soluções de alta viscosidade e elasticidade pela absorção de grandes quantidades de água e atuam na estabilização e suporte dos elementos fibrosos e celulares dos tecidos, também como contribuem na manutenção do equilíbrio da água e sal do organismo (MOTTA, 2005).

Figura 2 - Estrutura química do glicosaminoglicano

Fonte: MEISENBERG, G.; SIMMONS, W. H, **Princípios de bioquímica médica**, 4. ed., Elsevier España, S.L.U. 2018. 632p.

Os glicosaminoglicanos estão presentes nos espaços extracelulares como uma matriz gelatinosa que embebem o colágeno e outras proteínas, particularmente nos tecidos conjuntivos (cartilagens, tendões, pele, parede de vasos sanguíneos). A Tabela 1 apresenta a estrutura dos principais dissacarídeos, repetidos de alguns glicosaminoglicanos da matriz extracelular (MOTTA, 2005).

Tabela 1 - Estrutura dos principais dissacarídeos nos glicosaminoglicanos

Glicosaminoglicano	Principais dissacarídeos repetidos			Ligação glicosídica
	Componente 1	Ligação glicosídica	Componente 2	
Hialuronato	D-Glicuronato	$\beta(1\rightarrow3)$	N-Acetilglucosamina	$\beta(1\rightarrow4)$
Condroitina Sulfato	D-Glicuronato	$\beta(1\rightarrow3)$	N-Acetylgalactosamina	$\beta(1\rightarrow4)$
Dermatana sulfato	L-Iduronato	$\alpha(1\rightarrow3)$	N-Acetylgalactosamina	$\beta(1\rightarrow4)$
Queratona Sulfato	D-Galactose	$\beta(1\rightarrow4)$	N-Acetilglucosamina	$\beta(1\rightarrow3)$

Fonte: MOTTA, V.T. Bioquímica básica. [S.l]:Laboratório Autolab LTDA, 2005, 374p.

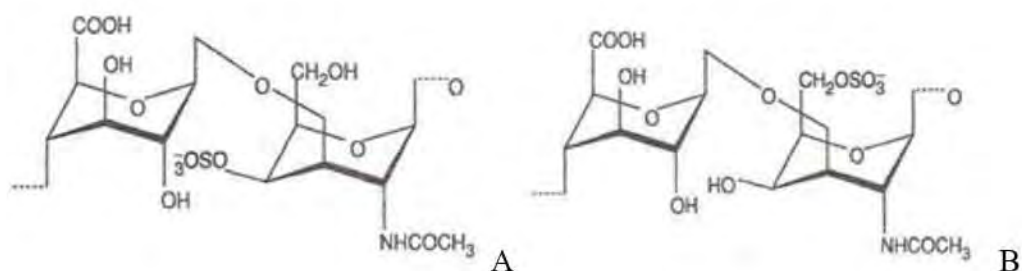
3.2.1. Importância dos glicosaminoglicanos no tecido conjuntivo

Os glicosaminoglicanos (GAGs) auxiliam no reestabelecimento da matriz extracelular de tecidos conjuntivos, que apresentem algum sinal de dano. Isto é possível, pois os GAGs são frequentemente o principal sítio de atividade biológica dos proteoglicanos, moléculas que agem como organizadores de tecidos e influenciam várias atividades celulares, como a adesão intercelular, na proliferação e na diferenciação celular (NELSON; COX, 2014). Os GAGs possuem vários sítios de ligação ricos nas possibilidades de realizar pontes de hidrogênio e interações eletrostáticas com outras proteínas da superfície celular da matriz celular. Quando estas substâncias contêm grupos sulfato (exemplo: sulfato de condroitina) combinados com os grupos carboxilato dos resíduos de ácido urônico, gera uma densidade muito grande de cargas negativas (NELSON; COX, 2014), que interage com cátions, especialmente íons Na^+ , os quais atraem água, uma substância que confere à matriz extracelular uma consistência de gel (maior viscosidade), fornece maior adesão, resistência a forças compressivas e facilita a difusão de oxigênio e nutrientes a partir dos capilares dos tecidos (MONTANARI, 2016). De acordo com Wollenweber et al. (2006), os GAGs podem ter outra função de interesse como é ação anti-inflamatória, podem reduzir a perda de proteoglicanos e de colágeno, ao inibirem enzimas degradativas da cartilagem, além disso, estimulam a síntese de proteoglicanos e colágeno, sendo capazes de aumentar a proliferação dos condrócitos e a biossíntese da matriz óssea.

3.2.2. Sulfato de condroitina

O sulfato de condroitina é um polímero de cadeia longa de uma unidade repetitiva de dissacarídeos: sulfato de galactosamina e ácido glicurônico. Existem duas formas exógenas principais: C-6-sulfato e A-4-sulfato ambas as formas indicam propriedades condroprotetoras quando usadas *in vitro* e *in vivo* (Figura 3) (RODGERS, 2006).

Figura 3 - Sulfato de Condroitina. (A) Condroitina-4-sulfato; (B) Condroitina-6-sulfato



Fonte: PAVÃO, M. S. G.; VILELA-SILVA, A. C.; MOURÃO, P. A. S. Biosynthesis of chondroitin sulfate: from the early precursor discoveries to nowadays, genetics approaches. *Advances in Pharmacology*, Academic Press, v. 53, p. 117-140, 2006. [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(05\)53006-0](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(05)53006-0).

O sulfato de condroitina é o glicosaminoglicano predominante principalmente na cartilagem articular e um componente natural de vários outros tecidos (tendões, ossos, discos vertebrais, coração e córnea) (HANSON et al., 1997). Conforme Brown et al. (1998) e Hanson et al. (1997) quando o sulfato de condroitina é fornecido ao indivíduo, parece ser capaz de influenciar o metabolismo, já que estimula a síntese de glicosaminoglicanos e proteoglicanos por mecanismos extracelulares e intracelulares, assim como, em virtude de comprimentos de cadeia longos, inibe competitivamente as enzimas degradativas dos proteoglicanos na cartilagem e no fluido sinovial.

O que se sabe *in vitro*, segundo Bassler, Rovati e Franchimont, (1998) é que, além de aumentar a síntese de glicosaminoglicanos e reduzir a degradação da glicosamina, a condroitina age inibindo a interleucina-1, com grande atividade na degradação do colágeno tipo II. Além disso, a condroitina tem a capacidade de aumentar a viscosidade do líquido sinovial por meio do aumento na concentração de ácido hialurônico (RONCA et al., 1998). Da mesma forma, o íon sulfato da condroitina tem a habilidade de ligar e reter a água em ambas as matrizes de proteoglicano e colágeno, dando à cartilagem articular sua resiliência única à força de impacto (RODGERS, 2006), tornando o sulfato de condroitina uma opção atraente para o tratamento de enfermidades locomotoras e efeitos nos tecidos conjuntivos.

3.3. *Manganês*

O manganês (Mn) é um oligoelemento essencial presente em todos os tecidos e é fundamental para o metabolismo normal dos aminoácidos ácidos, lipídios, proteínas e carboidratos (ASCHNER; ASCHNER, 2005; ZHU; RICHARDS, 2017). Como nutriente é necessário para a função imunológica normal, regulação do açúcar sangue, energia celular, digestão, reprodução, auxiliam a formação de tecido conjuntivo e osso, carboidratos, metabolismo lipídico e função cerebral (ASCHNER; ASCHNER, 2005; BOURRE, 2006; GRANDJEAN; LANDRIGAN, 2014).

Na matriz óssea e nos tecidos conjuntivos o Mn atua como cofator das galactotransferase e glicosiltransferase, enzimas necessárias para a formação de mucopolissacarídeos, principais constituintes proteoglicanos, que são proteínas essenciais para o crescimento da placa óssea e

para a formação da cartilagem das aves (FAVERO et al., 2013; REECE, 2006; TUFARELLI; LAUDADIO, 2017). Da mesma forma, os proteoglicanos de queratina e dermatana estão implicados na formação da matriz da casca de ovo (ZAMANI et al., 2005; ZHANG et al., 2017).

Outra das enzimas dependentes do Mn são arginase, fosfoenolpiruvato descarboxilase, glutamina sintetase, bem como Mn-superóxido dismutase (Mn-SOD) (TUFARELLI; LAUDADIO, 2017). Entre as enzimas anteriores destaca-se a ação do manganês na arginase e no SOD, visto que a arginase é uma enzima transaminase que converte arginina em ornitina e uréia, dois produtos necessários para a síntese de colágeno, o principal componente dos ossos e cartilagem. Com relação à enzima superóxido dismutase (SOD) quando conjugada ao Mn gera a SOD2 o MnSOD, que possui propriedades antioxidantes, minimizando o acúmulo das formas reativas do oxigênio, que poderiam lesar a célula (REECE, 2006), especialmente o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) que danifica proteínas que contêm centros Fe-S, como aconitase, succinato desidrogenase e NADH-ubiquinona oxidoreductase, entre outros (KONIGSBERG, 2008).

De acordo com Konigsberg (2008) o MnSOD tem como objetivo transformar o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em uma espécie de menor toxicidade como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que tem funções muito importantes na transdução de sinais e na ativação de genes, de modo que um bom funcionamento do SOD garante um estado redox correto, que permite uma atividade celular adequada.

Conforme a suas funções o Mn tornou-se um material de uso crescente devido à taxa de crescimento muito alta de linhagens comerciais de frangos de corte que pressiona ainda mais a estrutura óssea (JI et al., 2006). Também, a inclusão de Mn nas dietas busca determinar efeitos em doenças como as perose, ajudar a reduzir o nível de gordura abdominal nas carcaças de frangos e impede a redução na produção de ovos e o desenvolvimento de casca de ovo (TUFARELLI; LAUDADIO, 2017).

Por último, devido ao MnSOD e sua ação antioxidante, Li et al. (2011), Fouad e El-Senousey (2014) descrevem que o Mn pode ser fornecido à dieta de aves, a fim de melhorar a validade da carne.

3.4. Pesquisas com o uso de GAGs e manganês

Entre os condroprotetores mais comumente usados encontra-se principalmente o sulfato de condroitina e glicosamina, que podem ser usados de maneira isoladas ou combinados entre si e também acrescidos de outros condroprotetores que se propõem a ter efeitos benéficos na articulação, como extratos naturais de glicosaminoglicanos derivados de moluscos, assim como

algumas vitaminas (C, E), ácidos graxos (ômega 3) e minerais (Zn, Cu, Mn), cuja ação antioxidante pode beneficiar na redução da formação de radicais livres da articulação afetada (SOUZA et al., 2010).

A fim de determinar os efeitos dos GAGs no tratamento de doenças articular degenerativa em cães, foi observado que o sulfato de condroitina age na cartilagem osteoartrótica de maneira mais eficaz, reduzindo a perda de proteoglicanos e estimulando a viabilidade celular e a atividade metabólica (VIEIRA et al., 2010). Da mesma maneira, Goncalves et al. (2008) avaliaram o efeito sulfato de condroitina em cães com doença articular degenerativa induzida experimentalmente e verificaram que o GAGs estimula a atividade metabólica do condrócito, minimizando as lesões ocorridas durante a doença articular degenerativa. Rodgers (2006) estudou o efeito dos GAGs sobre cavalos com osteoartrite, relatou que o uso oral de glicosamina e sulfato de condroitina, diminui drasticamente a necessidade de infiltrações intra-articulares com ácido hialurônico e/ou corticosteróides tanto em número de aplicações assim como em frequência. Em frangos de corte, o uso de glicosaminoglicanos, foi apresentado por Sgavioli et al. (2017), que avaliaram o efeito dos glicosaminoglicanos sulfato de glicosamina e sulfato de condroitina no desenvolvimento ósseo e enfraquecimento articular. Os autores observaram que inclusões superiores a 0,08% poderiam ser utilizadas durante o crescimento de frangos, para melhorar o desempenho (melhor conversão alimentar) e alívio dos problemas das pernas nas aves de corte, devido ao efeito benéfico no desenvolvimento esquelético.

Com relação ao manganês (Mn), as pesquisas foram realizadas para determinar as exigências do mineral no desenvolvimento de frangos de corte nas fases de crescimento e terminação. Cupertino et al. (2005) sugeriram que a exigência de manganês para frangos de corte, machos e fêmeas, na fase de crescimento é de 90 ppm e, para a fase de terminação, os níveis de 30 a 40 ppm de manganês são suficientes para o desenvolvimento das aves alimentadas com dietas à base de milho e farelo de soja. Do mesmo modo, níveis de Mn foram testados por Faria et al. (1999), para verificar o efeito na qualidade de casca dos ovos de poedeiras comerciais. Observou-se que os níveis suplementares de manganês usados na pesquisa não foram efetivos em melhorar a qualidade da casca dos ovos de poedeiras na fase final de produção. Recentemente, Oliveira et al. (2015) observaram a influência do Mn sobre a mineralização óssea em pintinhos de corte e verificaram que a injeção in ovo de diluente comercial contendo alta concentração de microminerais suplementares (Zn, Mn e Cu) tem o potencial de melhorar a mineralização óssea.

De maneira geral, existem estudos avaliando o poder dos glicosaminoglicanos e o manganês na pesquisa com animais. No entanto, estudos relacionados com a ação sinérgica

entre GAGs e manganês na dieta de frangos de corte não têm sido muito bem elucidados. Portanto, pretendeu-se verificar como a suplementação de sulfato de condroitina (GAG) e manganês interagem no desenvolvimento do tecido conjuntivo, retardando ou diminuindo a ação degenerativa, que origina as miopatias ou alterações patológicas na estrutura óssea das aves, sem afetar o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne, além de verificar o perfil metabólico muscular de frangos de corte.

REFERÊNCIAS

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório anual 2022.

Disponível em: <<http://abpa-br.org/relatorios/>>. Acesso: 03 ago, 2022.

ALMEIDA-PAZ I. C. L. Problemas locomotores e técnicas de mensuração. Anais da Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas FACTA 2008, Santos, SP. Brasil. p. 128 – 137, 2008b.

ALMEIDA-PAZ, I. C. L. Problemas locomotores em frangos de corte - revisão. Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas, Campinas, v. 2, n. 3, p. 263 – 272, 2008a.

ALNAHHAS, N. et al. Impact of divergent selection for ultimate pH of pectoralis major muscle on biochemical, histological and sensorial attributes of broiler meat. **Journal of Animal Science**, Cary, v. 93, n. 9, p. 4524-4531, 2015.

ALNAHHAS, N. et al. Genetic parameters of white striping in relation to body weight, carcass composition, and meat quality traits in two broiler lines divergently selected for the ultimate pH of the pectoralis major muscle. **BioMed Central Genet**, London, v. 17, n.1, p. 61-69. 2016.

ANGEL, R. Metabolic disorders: limitations to growth of and mineral deposition into the broiler skeleton after hatch and potential implications for leg problems. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v. 16, n. 1, p. 138-149, 2007.

ASCHNER, J.L.; ASCHNER, M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v. 26, n. 4-5, p.353-362, 2005.

BALDI, G. et al. Implications of White Striping and Spaghetti Meat abnormalities on meat quality and histological features in broilers, London, **Animal**, Amsterdam, v. 12, n. 1, p. 164-173, 2018.

BANKS, W. J. Tecido muscular. In: **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole LTDA, cap. 13, p. 215 – 236, 1992.

- BASSLER, C.; ROVATI, L.; FRANCHIMONT, P. Stimulation of proteoglycan production by glucosamine sulfate in chondrocytes isolated from human osteoarthritis articular cartilage in vitro. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 6, n. 6, p. 427-434, 1998.
- BAUERMEISTER, L. J. et al. Occurrence of White striping in chicken breast fillets in relation to broiler size. **Poultry Science**, Cary, v. 88 (Suppl 1):33 (Abstr.), 2009.
- BOURRE, J.M. Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the nervous system: update on dietary requirements for brain. **The Journal of Nutrition, Health and Aging**, Berlin, v. 19, n. 5 p.377–385, 2006.
- BRAMBILA, G.S. et al. Comparison of sensory texture attributes of broiler breast fillets with different degrees of White Striping. **Poultry Science**, Cary, v. 95, n. 10, p. 2472–2476. 2016.
- BROWN, M. P. et al. Changes in sulfation patterns of chondroitin sulfate in equine articular cartilage and synovial fluid in response to ageing and osteoarthritis. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 59, n. 6, p. 786 – 791, 1998.
- CRESPO R; SHIVAPRASAD H. Developmental, metabolic, and other noninfectious disorders. In: SAIFF, Y M. (Ed.), **Diseases of Poultry**, 11 Ed. Iowa State Press, p. 1055 – 1102, 2003.
- CUPERTINO, E. S. et al. Exigências de manganês para frangos de corte nas fases de crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2308 – 2315, 2005.
- EDWARDS, J.H.M. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, Cary, v. 79, n. 7, p. 1018 – 1023, 2000.
- FARIA, D. E. et al. Effect of different levels of manganese and phosphorus on the performance and eggshell quality of laying hens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 105 – 112, 1999.
- FAVERO, A. et al. Reproductive performance of Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid complexed sources. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v. 22, n. 1, p. 80-91, 2013.
- FOUAD, A.M.; EL-SENOUSEY, H.K. Nutritional factors affecting abdominal fat deposition in poultry: a review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seul, v. 27, n. 7, p. 1057-1068, 2014.
- FRANCO J. R. G., et al. Efeito dos ionóforos e do balanço eletrolítico da dieta sobre o desempenho e a incidência de discondroplasia tibial em frangos de corte na fase inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 135 – 145, 2004.
- GONÇALVES, G. E. et al. Effects of chondroitin sulfate and sodium hyaluronate on chondrocytes and extracellular matrix of articular cartilage in dogs with joint disease. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 93 – 102, 2008.

GRANDJEAN, P.; LANDRIGAN, P.J. Neurobehavioural effects of developmental toxicity. **Lancet Neurology**, London, v.13, p. 330–338, 2014.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. **Methods Enzymology**, San Diego, v. 186, p.1-85. 1990.

HANSON, R. R. et al. Oral treatment with a glucosamine-chondroitin sulfate compound for degenerative joint disease in horses: 25 cases. **Equine Practice**. Mission Viejo, v. 19, n.9, p.16–22. 1997.

HUANG, X.; AHN, D.U. The Incidence of Muscle Abnormalities in Broiler Breast Meat – A Review. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, Seoul, v. 38, n. 5, p. 835-850, 2018.

Jl, F. et al. Effect of manganese source on manganese absorption by the intestine of broilers. **Poultry Science**, Cary, v. 85, n. 11, p. 1947-1952, 2006.

JULIAN, R. Patologias ósseas em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DECIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas. **Anais...** Volume 2, Campinas: FACTA, 2005. p. 107-122.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 488p, 2004.

KONIGSBERG, F. M. **Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas**. México: Editorial El Manual Moderno, 2008. 623 p.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat varying degrees of white striping. **Poultry Science**. Cary, v. 91, n.5, p.1240-1247, 2012a.

KUTTAPPAN, V.A.; Brewer, V.B.; Apple, J.K.; Waldroup, P.W.; Owens, C.M. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, Cary, v. 91, n. 10, p. 2677–2685. 2012b.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Estimation of factors associated with the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, Cary, v. 92, n. 3, p. 811-819, 2013a.

KUTTAPPAN, V.A. et al. Comparison of hematologic and serologic profiles of broiler birds with normal and severe degrees of white striping in breast fillets. **Poultry Science**, Cary, v. 92, n. 2, p. 339–345. 2013b.

KUTTAPPAN, V. A. et al. White striping and woody breast: Effect on raw broiler breast fillet quality. **Poultry Science**. Cary, v. 94, p.521. (Abstr.) 2016.

LEACH-Jr, R; MONSONEGO, E.O. Tibial Dyschondroplasia 40 Years Later, **Poultry Science**, Cary, v.86, n, 10, p. 2053-2058, 2007.

LI, S. et al. Dietary manganese modulates expression of the manganese-containing superoxide dismutase gene in chickens. **The Journal of Nutrition**, Houston, v. 141, n. 2, p. 189-194, 2011

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 296 p.

MacRAE, V.E. et al. Skeletal muscle fibre growth and growth associated myopathy in the domestic chicken (*Gallus domesticus*). **British Poultry Science**, Abingdon, v. 47, n. 3, p. 264-272. 2006.

MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Coordenação Geral de Inspeção. OFÍCIO-CIRCULAR Nº 17: Definição e classificação de miopatias para fins de aplicação do artigo 175 do Decreto 9.013, de 29/03/2017. 2019. 3 p.

MEISENBERG, G.; SIMMONS, W. H, **Principios de bioquímica médica**, 4. ed., Elsevier España, S.L.U. 2018. 632p.

MONTANARI, T. **Histologia**: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. 3.ed. Porto Alegre: Ed. da autora, 2016. 229 p. Disponível: <<http://www.ufrgs.br/livrodehisto> ISBN: 978-85-915646-3-7> Acesso: 12 jun.2017.

MOTTA, V.T. **Bioquímica básica**. [S.l]: Laboratório Autolab LTDA, 2005, 374p.

MUDALAL, S. et al. Quantity and functionality of protein fractions in chicken breast fillets affected by white striping. **Poultry Science**, Cary, v. 93, n. 8, p. 2108–2116. 2014.

MUDALAL, S. et al. Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. **Animal**, Amsterdam, v. 9, n. 4, p. 728–734. 2015.

MUTRYN, M.F. et al. Characterization of a novel chicken muscle disorder through differential gene expression and pathway analysis using RNA-sequencing. **BMC Genomics**, London, v. 16, n. 399, p. 1-19. 2015.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de lehniger**. 6. ed Porto Alegre: Artmed, 2014. 1298 p.

OLIVEIRA, T. F. B. et al. Effects of in ovo injection of organic zinc, manganese, and copper on the hatchability and bone parameters of broiler hatchlings. **Poultry Science**. Cary, v. 94, n. 10, p.2488–2494, 2015.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. et al. Incubation conditions affect leg health in large, high-yield broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v.18, p.640–646, 2009.

OWENS, C. M. Market trends and challenges associated with pro-cessing and product quality of poultry. In: XXX Curso de Especialización FEDNA. **Anais**, Madrid, 5 e 6 de Novembro de 2014.

PAVÃO, M. S. G.; VILELA-SILVA, A. C.; MOURÃO, P. A. S. Biosynthesis of chondroitin sulfate: from the early precursor discoveries to nowadays, genetics approaches. *Advances in*

Pharmacology, Academic Press, v. 53, p. 117-140, 2006. [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(05\)53006-0](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(05)53006-0).

PETER, J. B. et al. Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in Guinea pig and rabbits. **Biochemistry**, Washington, v. 11, n. 14, p.2627-2633, 1972.

PETRACCI, M. et al. Occurrence of White striping and its impact on breast meat quality in broiler chickens. **Poultry Science**, Cary, v. 92, n. 6, p.1670-1675, 2013.

PETRACCI, M. et al. Effect of White Striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. **Italian Journal of Animal Science**, Abingdon, v. 13, n. 1, p. 179–183. 2014.

PETRACCI, M. et al. Wooden-Breast, White Striping, and Spaghetti Meat: causes, consequences and consumer perception of emerging broiler meat abnormalities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Hoboken, v. 18, n. 2, p. 565-583, 2019.

POWELL, K.C.; BITTAR FILHO, I. Atualidades em problemas locomotores em frango de corte. In: Conferência APINCO 2008 de Ciência e Tecnologia Avícola. **Anais**, FACTA. Santos-SP. p. 187-196. 2008.

REECE, W. O. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 926 p.

RODGERS, M.R. Effects of Oral Glucosamine and chondroitin sulfates supplementation on frequency of intraarticular therapy of the horse tarsus. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, Apopka, v.4, n. 2, p. 155- 162. 2006.

RONCA, F. et al. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 6, Suppl A, p. 14-21, 1998.

RUTZ, F. et al. Crescimento muscular e características da qualidade das carcaças de frangos: genética, nutrição e sanidade, qual o papel de cada um?. In: XVIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura e IX Brasil Sul Poultry Fair, 2017, Chapecó, SC, **Anais...** Concórdia, SC : Embrapa Suínos e Aves, 2017.

SGAVIOLI, S. et al. Effect of the addition of glycosaminoglycans on bone and cartilaginous development of broiler chickens. **Poultry Science**, Cary, v.96, n. 11, p. 4017-4025, 2017.

SOGLIA, F. et al. Petracci, M. Functional property issues in broiler breast meat related to emerging muscle abnormalities. **Food Research International**, Amsterdam, v. 89, part. 3, p. 1071–1076. 2016.

SOGLIA, F. et al. Effect of White Striping on turkey breast meat quality. **Animal**, Amsterdam, v. 12, n.10, p. 2198–2204. 2018.

SOIKE, D.; BERGMANN, V. Comparison of skeletal muscle characteristics in chicken breed for meat or egg production. I. Histological and electron microscope production. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 45, n. 3, p. 161-167, 1998.

SOSNICKI, A.A. Focal myonecrosis effects in turkey muscle tissue. Reciprocal Meat Conference Proceedings, **American Meat Science Association/National Live Stock and Meat Board**, Chicago, v. 46, p.97-102, 1993.

SOUZA, A.N.A. et al. Uso dos condroprotetores na afecção articular degenerativa: revisão. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 281-289, 2010.

TROCINO, A. et al. Effect of genotype, gender and feed restriction on growth, meat quality and the occurrence of white striping and wooden breast in broiler chickens. **Poultry Science**, Cary, v. 94, n.12, p. 2996–3004. 2015.

TUFARELLI, V.; LAUDADIO, V. Manganese and its role in poultry nutrition: AN OVERVIEW, **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 5 n. 6, p.749-754, 2017.

VAN WYHE et al. A comparison of long bone development in historical and contemporary ducks, **Poultry Science**, Cary, v. 91, n.11, p. 2858-2865, 2012.

VELLEMAN, S.G.; NESTOR, K.E. Effect of selection for growth rate on myosin heavy chain temporal and spatial localization during turkey breast muscle development. **Poultry Science**, Cary, v. 82, n. 9, p.1373-1377, 2003.

VELLEMAN S. G. Relationship of Skeletal Muscle Development and Growth to Breast Muscle Myopathies: A Review. **Avian diseases**, Jacksonville, v. 59, n. 4, p.525–531, 2015.

VIEIRA, N. T. et al. Efeitos dos glicosaminoglicanos e sulfato de condroitina A sobre a cartilagem articular normal e com doença articular degenerativa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1117-1127, 2010.

WATERS, R.L.; MULROY, S. The energy expenditure of normal and pathologic gait. **Gait & Posture**, Amsterdam, v.9, n. 3, p. 207-231, 1999.

WOLLENWEBER, M., H. T. Mimicked bioartificial matrix containing chondroitin sulphate on a textile scaffold of poly(3-hydroxybutyrate) alters the differentiation of adult human mesenchymal stem cells. **Tissue Engineering**, New Rochelle, v.12, n. 2, p.12:345–359. 2006.

ZAMANI, A.; RAHMANI, H.; POURREZA, I. Effect of different levels of manganese and zinc on performance traits and breaking eggs in laying hens. **Pakistan Journal of Biological Science**, Islamabad, v. 8, n. 7, p. 1035-1040, 2005.

ZHANG, Y.N. et al. Effect of dietary supplementation of organic or inorganic manganese on eggshell quality, ultrastructure, and components in laying hens. **Poultry Science**, Cary, v. 96, n. 7, p. 2184-2193, 2017.

ZHU, W.; RICHARDS, N.G. Biological functions controlled by manganese redox changes in mononuclear Mn-dependent enzymes. **Essays in Biochemistry**, London, v. 61, n. 2, p. 259-270, 2017.

CAPITULO 2
ARTIGO SOBRE DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇA E QUALIDADE
DA CARNE

A suplementação dietética de sulfato de condroitina e manganês altera o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne de frangos de corte

Julian A. Muñoz¹, Taiane S. Martins², Pollyana L. M. Garbossa², Lenise F. Mueller¹, Adrielle M. Ferrinho¹, Gabriella V. de Moura¹, Ingrid Harumi S. Fuzikawa¹, Jessica L. Gemelli¹, Tamyres R. Amorim¹, Hellenocris C. Rocha², Gustavo A. Correr¹, Julia M. Guardia¹, Cristiane Soares S. Araújo² Angélica Simone C. Pereira²

¹Departamento de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 13635-900, Brasil.

²Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 13635-900, Brasil.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de sulfato de condroitina (SC) e manganês (Mn) na dieta de frangos de corte sobre o desempenho, as características de carcaça e qualidade da carne de frangos de corte. Utilizou-se 1152 pintos machos Cobb, alojados por 47 dias e distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x3, sendo quatro doses de SC (0,00; 0,06; 0,12 e 0,18% p/p: kg de SC/kg de ração) e três doses de Mn (0, 40 e 80 mg/kg), totalizando 12 tratamentos com 8 repetições de 12 aves cada. Realizou-se a análise das características de desempenho durante o período experimental. No processo de abate, foi calculado o rendimento de carcaça e cortes de peitos (Pt), coxas + sobrecoxas (Cx+SCx), cabeça (CaP), dorso (DS) e asas (AS). Posteriormente, determinou-se a presença de miopatia *white striping* e realizou-se a análise da qualidade da carne por meio do pH, cor (sistema CIELAB: L, a* e b*), perda de peso por cocção (PPC), força de cisalhamento (FC), perfil de ácidos graxos (PAG), teor de colágeno (total e solúvel), composição centesimal e morfometria do músculo de peitoral. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao 5% e 10% de probabilidade. Observou-se que independentemente dos níveis de SC ou Mn, os peitos apresentaram miopatia *white striping* moderada. Verificou-se o efeito dos níveis de inclusão de SC e Mn, aumentando o desempenho das aves até os 28 dias (P<0,05), assim como os níveis dos fatores (SC e Mn) influenciaram os rendimentos de Pt, CaP, cor (L, a* e b*) e perfil de ácidos graxos (P<0,10). Houve interação (P<0,10) para o rendimento de Cx+SCx, AS e pH, observando-se o nível de 0,18% de SC e suas combinações com os níveis de Mn, como as dietas que apresentaram as principais

diferenças nos rendimentos de pernas e AS. Para o teor pH, verificou-se altos valores nos peitos de aves suplementadas com 0,06% e 0,18% de SC e suas combinações com 40 mg/kg de Mn, quando comparado com o valor de pH desses valores de SC com 0 mg/kg de Mn. Portanto, a inclusão de SC, assim como usar 40 mg/kg de Mn na dieta de frangos de corte pode ser uma boa alternativa para melhorar o desempenho das aves nas primeiras semanas de vida, assim como na carne de peito a suplementação pode incrementar a composição de lipídeos e proporcionar uma redução no índice trombogênico, sem afetar a composição química do músculo peitoral. De igual forma, dependendo das combinações de SC e Mn as características morfométricas como a largura do peito podem apresentar menores tamanhos.

Palavras Chave: Composição físico-química, desempenho, glicosaminoglicanos, mineral, miopatia.

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento muscular das novas linhagens de frangos de corte que proporcionou o aumento do diâmetro das suas fibras, produto do crescimento hipertrófico, está diminuindo o espaço disponível para o tecido conjuntivo e assim afetando o suprimento de sangue e oxigênio ao tecido muscular, levando ao desenvolvimento de hipóxia, condição que compromete o fornecimento de nutrientes e a remoção dos metabólicos que são produzidos pelas fibras musculares (VELLEMAN, 2015; PETRACCI et al., 2019).

O tecido muscular tenta superar a hipóxia aumentando o fluxo sanguíneo por meio da síntese de óxido nítrico, que, no entanto, pode exacerbar e acelerar o desenvolvimento de estresse oxidativo. Tal ambiente pró-oxidativo ocasiona distúrbios iônicos que levam ao aumento do dano às proteínas celulares e às membranas plasmáticas, ativa mecanismos inflamatórios que contribuem na miodegeneração (miopatias) e necroses da fibra muscular (SOSNICK, 1993; BOERBOOM et al., 2018; HUANG E AHN, 2018).

As miopatias são anormalidades atribuídas a defeitos no tecido conjuntivo imaturo (PETRACCI; CAVANI, 2012). *White striping* (WS) é uma miopatia caracterizada por estrias brancas paralelas à direção das fibras musculares do peito e que são relacionadas com sinais de degeneração das miofibras. Estudos indicaram que realmente a composição muscular de aves com estrias brancas apresenta aumento no conteúdo de tecido conjuntivo (fibrose) e de gordura, além de uma redução no teor proteico (KUTTAPPAN et al., 2013a).

Os efeitos das estrias sobre o tecido conjuntivo e o teor proteico, podem afetar a qualidade da carne. Conforme Sihvo et al. (2014) filés duros eram acompanhados de estrias brancas (acúmulo de tecido conjuntivo em lugares em que houve degeneração das fibras), afetando a aparência. Petracci et al. (2013), analisando peitos com estrias brancas, demonstraram maior perda durante a cocção. Isto é atribuído a uma redução significativa no conteúdo total de proteína, em particular na fração miofibrilar (PETRACCI et al., 2014), que apresenta um papel importante na funcionalidade das proteínas durante o processamento (PETRACCI et al., 2013). Além das características de qualidade da carne, as dimensões dos filés também foram afetadas pela condição das estrias. Os filés de peito, que apresentavam a condição de estrias brancas eram maiores, mais largos e mais altos do que os filés normais (KUTTAPPAN et al., 2009).

De acordo com Kuttappan et al. (2016), as miopatias como anormalidades

principalmente nos peitos dos frangos de corte podem resultar em perda anual de \$ 200 milhões, ou mais, para a indústria de aves nos EUA, pois a miopatia prejudica principalmente a aparência e a textura dos peitos influenciando o consumidor na seleção inicial e satisfação final do produto.

Ao considerar que as anormalidades no desenvolvimento muscular podem ser atribuídas a defeitos no tecido conjuntivo imaturo, é necessário estabelecer alternativas que permitam o desenvolvimento do tecido. Neste sentido, glicosaminoglicanos (GAGs) tornam-se importantes, pois podem auxiliar no reestabelecimento da matriz extracelular de tecidos conjuntivos (NELSON; COX, 2014). O sulfato de condroitina devido a suas altas concentrações na cartilagem é um dos GAGs amplamente conhecido como suplemento dietético porque pode impactar processos associados à degeneração da cartilagem, promovendo a síntese de proteoglicanos perdidos durante a degeneração da cartilagem. Além disso, os GAGs possuem efeito anti-inflamatório (LAUDER, 2009). Também, os GAGs inibem competitivamente as enzimas degradativas dos proteoglicanos e do colágeno tipo II na cartilagem e no fluido sinovial (HANSON et al., 1997; BASSLER et al., 1998).

Outro elemento que pode auxiliar o desenvolvimento do tecido conjuntivo imaturo é o manganês (Mn). Este oligoelemento é essencial e está envolvido em muitos processos biológicos, além de ser fundamental para o crescimento ósseo, devido a sua participação como ativador das glicosiltransferases, enzimas que desempenham papel crítico na formação e alongamento das cadeias GAG na biossíntese de proteoglicanos no tecido conjuntivo, que são proteínas essenciais para o crescimento da placa óssea e para a formação da cartilagem óssea de aves (YANG E KLIMIS-TAVANTZIS, 1998; KALEA et al., 2006; FAVERO et al., 2013; TUFARELLI; LAUDADIO, 2017). Este mineral também ativa efetivamente sulfotransferases, enzimas envolvidas na sulfatação e síntese de GAG (KALEA et al., 2006).

No geral, a adição de Mn na alimentação pode influenciar o desempenho e desenvolvimento das aves, reduzir a gordura das carcaças e em galinhas de postura, o Mn aumenta a produção e o peso dos ovos (TUFARELLI; LAUDADIO, 2017). Já, o sulfato de condroitina na alimentação animal tem sido usado como tratamento para doença articular degenerativa em cães (VIEIRA et al., 2010; GONCALVES et al., 2008) cavalos (RODGERS, 2006) e bovinos (DE MATTEI et al., 2002). No entanto, em aves Sgavioli et al. (2017) usaram sulfato de condroitina para verificar os efeitos nas deformações ósseas, assim como no desempenho produtivo das aves. Os autores concluíram que a inclusão de SC na ração de

frangos tem efeito benéfico no desenvolvimento esquelético, levando a uma melhor conversão alimentar. Da mesma forma, Santos et al. (2019) avaliando a alimentação “*in ovo*” ou suplementação dietética de glicosaminoglicanos (sulfato de condroitina e sulfato de glucosamina) e vitamina C em frangos de corte, verificaram benefícios no desenvolvimento de ossos e cartilagens de aves, mas no desempenho, observaram efeitos negativos na conversão alimentar.

Portanto, pretendeu-se verificar se a adição do sulfato de condroitina e manganês podem reestabelecer o desenvolvimento de tecido conjuntivo muscular, evitando as miopatia e os problemas de qualidade de carne associados a este tipo de patologia. Além disso, também será verificado se existe ação sinérgica do sulfato de condroitina e manganês que levam a efeitos no desempenho e rendimentos de cortes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. *Local, animais e delineamento experimental*

O experimento foi conduzido no laboratório de avicultura do departamento de nutrição e produção animal VNP-FMVZ/USP (Figura 4), conforme as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/FZEA/USP (processo número 8401180618) que estão baseadas na Lei Federal nº 11.794 de 08 de outubro de 2008, o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

Figura 4 - Aviário experimental do laboratório de avicultura VNP-FMVZ/USP



A) Instalações experimentais; B) Alojamento das aves.
Fonte: Própria autoria.

Utilizou-se 1152 pintos de corte machos Cobb de um dia de idade, alojados em 96 boxes de galpão de alvenaria durante 47 dias (sete semanas). A distribuição dos tratamentos (Tabela 2) foi em delineamento inteiramente ao acaso, arranjados em esquema fatorial (4x3), sendo os fatores: Quatro doses de sulfato de condroitina (0,00; 0,06; 0,12 e 0,18%) e três doses de manganês (0, 40 e 80 mg/kg), totalizando 12 tratamentos com 8 repetições de 12 aves cada. As unidades experimentais foram equipadas com bebedouros automático tipo nipple, comedouros tubulares e lâmpadas infravermelho de aquecimento de 250 Watts. O programa de luz estabelecido e o manejo adotado foi de acordo com o manual de manejo de frangos de corte Cobb (2014).

Tabela 2 - Identificação das dietas experimentais

Tratamento	Fator	
	Sulfato de condroitina (kg de SC/ kg de ração)	Manganês (mg/kg)
1	0,00	0
2	0,00	40
3	0,00	80
4	0,06	0
5	0,06	40
6	0,06	80
7	0,12	0
8	0,12	40
9	0,12	80
10	0,18	0
11	0,18	40
12	0,18	80

Fonte: Própria autoria

Para melhor controle do ambiente térmico no interior do galpão foi necessário termo-higrômetro digital, sendo as leituras máximas e mínimas tanto de temperatura (°C) quanto de Umidade relativa do ar (URA%) registradas no período da manhã e à tarde. O monitoramento das condições ambientais do aviário foi realizado pelo método de índice Entalpia de conforto (IEC) (QUEIROZ et al., 2012), segundo os passos a seguir:

1. Verificação da tabela a ser usada segundo a idade (semanas) dos animais alojados.
2. Para a obtenção dos índices de entalpia de conforto (IEC), utilizam-se as temperaturas (°C) e URA (%) registradas diariamente. Nas tabelas, a URA (%) encontra-se na coluna e a temperatura (°C) está na linha. O valor de entalpia de conforto será o cruzamento do valor da coluna com a linha.

3. O valor do IEC obtido com dito cruzamento estará situado em uma faixa de ambiência. A classificação das faixas é conforto térmico (Verde), Alerta (Amarela), Crítica (Laranja) e letal (Vermelha).

O IEC determinado como base nos valores médios para temperatura e umidade relativa do ar para cada fase de criação de aves é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3– Resultado das condições ambientais do experimento

Fase	*Valores médios semanais para tabelas de entalpia					
	Manhã			Tarde		
	T °C	URA %	Entalpia kJ/kg	T °C	URA %	Entalpia kJ/kg
7	28,40	58,21	79,93	29,96	57,21	80,08
14	27,54	65,29	80,79	29,26	62,86	83,76
21	23,65	71,50	68,51	27,49	65,71	82,73
28	25,45	65,79	76,82	27,82	65,07	78,75
35	23,89	69,57	67,38	26,24	69,79	77,99
41	22,75	79,00	65,70	25,52	78,14	76,85
46	22,70	80,75	66,99	26,64	78,75	86,86

Conforto
 Alerta
 Crítica
 Letal

*Média da Temperatura (T°C), Umidade relativa do ar (URA) e Índice de Entalpia de Conforto (IEC)

Fonte: Própria autoria. Mas monitoramento realizado com base na análise das tabelas de IEC do Núcleo de Estudos em Ambiência agrícola e Bem-estar Animal - NEAMBE (QUEIROZ et al., 2012).

De acordo com as condições de ambiência encontradas foram realizadas as práticas de manejo, como controle da temperatura utilizando cortina na lateral e três ventiladores, para o controle da umidade foram utilizados aspersores. Todos os equipamentos foram acionados manualmente e de acordo com as necessidades e com o objetivo de manter o conforto dos animais

2.2. Dietas experimentais

As dietas experimentais foram elaboradas à base de milho e farelo de soja, o sulfato de condroitina sódica ($[C_{14}H_{19}NO_{14}SN_2]_n$; 4-Sulfato de condroitina, origem de cartilagem bovina) foi incluído nas rações em substituição ao material inerte (areia) nas concentrações definidas para cada tratamento. O manganês (quelato de manganês de metionina hidroxí análoga) foi adicionado nas dietas pronta, conforme descrição da Tabela 2 e misturada por

segunda vez na Fábrica de Pré-Mistura, localizada na Seção Fábrica de Rações do laboratório de avicultura do VNP-FMVZ/USP, Campus Fernando Costa – Pirassununga.

O programa alimentar usado foi de cinco fases: Pré-inicial (1-7d), Inicial (8-21d), Crescimento 1 (22-35d), Crescimento 2 (36-42d) e Final (43-47d), conforme as recomendações do Suplemento de nutrição e desempenho do frango de corte (COBB 500TM, 2015). A formulação das dietas foi realizada no programa Super Crac 5.7 Windows Versão Master[®] (copyright 1983-2010) (Tabela 4).

Tabela 4 - Composição percentual das dietas basais para cada fase experimental

Ingrediente (%)	Dieta			
	1 a 7 dias	8 a 21 dias	22 a 35 dias	36 a 47 dias
	Manganês ³	Manganês ³	Manganês ³	Manganês ³
	0-40-80 mg/kg	0-40-80 mg/kg	0-40-80 mg/kg	0-40-80 mg/kg
Milho (7,88%)	55,57	61,44	64,73	67,86
Farelo de soja (45%)	37,83	32,42	27,82	24,96
Fosfato Bicalcico	1,86	1,74	1,48	1,50
Óleo de Soja	2,54	2,27	3,78	3,58
Calcário Calcítico	0,78	0,75	0,72	0,73
Sal comum	0,37	0,37	0,44	0,34
L- Lisina HCL	0,20	0,23	0,14	0,16
DL- Metionina	0,33	0,31	0,22	0,20
L-Treonina	0,10	0,06	0,05	0,05
Premix ^{1,2}	0,20	0,20	0,40	0,40
Cloreto de Colina 70%	0,03	0,03	0,03	0,03
	0,00-0,06-0,12-	0,00-0,06-0,12-	0,00-0,06-0,12-	0,00-0,06-0,12-
Sulfato de condroitina ⁴	0,18	0,18	0,18	0,18
Inerte (areia) ⁵	0,18 a 0,00	0,18 a 0,00	0,18 a 0,00	0,18 a 0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
EM e Nutrientes Calculados (%)				
EM (Mcal/kg)	2,98	3,03	3,17	3,19
Proteína Bruta	22,00	20,00	19,00	18,00
Cálcio	0,90	0,84	0,76	0,76
Fósforo Disponível	0,45	0,42	0,38	0,38
Ácido Linoleico	2,65	2,58	3,41	3,35
Potássio	0,87	0,79	0,70	0,66
Sódio	0,16	0,16	0,20	0,16
Cloro	0,29	0,29	0,31	0,25
Lisina Dig.	1,22	1,12	0,95	0,90
Metionina+Cistina Dig.	0,91	0,85	0,74	0,70
Metionina Dig.	0,61	0,58	0,47	0,44
Treonina Dig.	0,83	0,73	0,65	0,61
Triptofano Dig.	0,25	0,22	0,19	0,18

¹Composição do premix vitamínico e mineral por kg de ração para frangos de 1 a 21 dias de idade: Ácido fólico (mínimo) 250,00 mg/kg; Ácido pantotênico (mínimo) 3.750,00 mg/kg; Cobre (mínimo) 25,00 g/kg; Colina (mínimo) 86,56 g/kg; Ferro (mínimo)12,50 g/kg; Iodo (mínimo)300,00 mg/kg; Manganês (mínimo)17,50 g/kg; Niacina (mínimo)10,00 g/kg; Selênio (mínimo) 50,00 mg/kg; Vitamina A (mínimo)2.000.000,00 UI/kg; Vitamina B1 (mínimo) 600,00 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo)3.500,00 mcg/kg; Vitamina B2 (mínimo)1.500,00 mg/kg; Vitamina B6 (mínimo)1.000,00 mg/kg; Vitamina D3 (mínimo)600.000,00 UI/kg; Vitamina E (mínimo)3.000,00 UI/kg; Vitamina K3 (mínimo)500,00 mg/kg; Zinco (mínimo)12,50 g/kg; Virginiamicina 3.750,00 mg/kg; Nicarbazina 31,25 g/kg.

²Composição do premix vitamínico e mineral por kg de ração para frangos de a 21 a 47 dias de idade: Ácido fólico (mín.) 200,00 mg/kg; Ácido pantotênico (mín.) 2.866,50 mg/kg; Sulfato de Cobre (mín.) 3000,00 mg/kg; Colina (mínimo) 60,00 g/kg; Sulfato de Ferro (mín.) 9525,00 mg/kg; Iodo (iodato de cálcio; mín.) 254,40 mg/kg; Monóxido de Manganês (mín.)13,50 g/kg; Niacina (mín.) 6.996,00 mg/kg; Selênio (selenito de sódio; mínimo) 75,65 mg/kg; Vitamina A (mínimo)2.044.800,00 UI/kg; Vitamina B1 (mín.) 494,80 mg/kg; Vitamina B12 (mín.) 3.380,00 mcg/kg; Vitamina B2 (mín.)1.260,00 mg/kg; Vitamina B6 (mín.) 551,25 mg/kg; Vitamina D3 (mín.) 508.360,00 UI/kg; Vitamina E (mín.) 3.825,00 UI/kg; Vitamina K3 (mínimo) 688,40 mg/kg; Óxido de Zinco (mínimo)12,54 g/kg; Biotina (mín.) 17,00 mg/kg; Halquinol 7.500,00 mg/kg; Salinomicina 16,50 g/kg.

^{3,4}Níveis de adição do sulfato de condroitina (SC) e manganês (Mn) de acordo com os tratamentos experimentais: **T1:** 0,0 % de SC e 0 mg/kg de Mn; **T2:** 0,0 % de SC e 40 mg/kg de Mn; **T3:** 0,0 % de SC e 80 mg/kg de Mn; **T4:** 0,06 % de SC e 0 mg/kg de Mn; **T5:** 0,06 % de SC e 40 mg/kg de Mn; **T6:** 0,06 % de SC e 80 mg/kg de Mn; **T7:** 0,12 % de SC e 0 mg/kg de Mn; **T8:** 0,12 % de SC e 40 mg/kg de Mn; **T9:** 0,12 % de SC e 80 mg/kg de Mn; **T10:** 0,18 % de SC e 0 mg/kg de Mn; **T11:** 0,18 % de SC e 40 mg/kg de Mn; **T12:** 0,18% de SC e 80 mg/kg de Mn.

⁵Nível do inerte: Diminui na mesma proporção que aumenta o sulfato de condroitina.

2.3. Desempenho, abate e coleta de amostras

As aves, a ração e suas sobras foram pesadas semanalmente para acompanhar o desenvolvimento das aves por meio do peso corporal (PC), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR: corrigido, considerando a mortalidade para cada período de análise, segundo Sakomura e Rostagno (2016), conversão alimentar (CA) e viabilidade criatória (VC). Os dados foram calculados semanalmente para manter o controle do desempenho das aves e a indicação dos resultados foi nos períodos de 1 a 7; 1 a 14; 1 a 21; 1 a 28; 1 a 35; 1 a 42 e 1 a 47 dias de idade.

No final do período experimental, 384 aves foram selecionadas para realizar o procedimento de abate (o peso corporal foi a característica principal para a seleção uma vez que as aves mais pesadas estão relacionadas com maior incidência e severidade da *white striping*). As aves foram identificadas individualmente com anilha no pé, e em seguida submetidas ao período de jejum de alimento de dez horas.

Do total de frangos, 96 foram abatidos pelo deslocamento cervical no laboratório de avicultura do departamento de nutrição e produção animal VNP-FMVZ/USP, depenadas e evisceradas manualmente. De cada carcaça, foram retirados os peitos, identificados e submetidos à análise macroscópica da presença da miopatia “*white striping*” de acordo com Kuttappan et al. (2012). Em seguida, realizou-se a análise das dimensões dos peitos e o registro

fotográfico para validação dos procedimentos anteriores (presença de miopatia e dimensões do peito) com auxílio do programa ImageJ.

As 288 aves restantes foram abatidas no Abatedouro Escola da Universidade de São Paulo, Campus Fernando Costa – Pirassununga, de acordo com o regulamento de fiscalização industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA-MAPA, 2017). Cada ave foi pesada individualmente, insensibilizada por eletronarcose, e em seguida a sangria foi realizada através de corte transversal da veia jugular por 3 minutos. As aves foram escaldadas por imersão em tanque com água aquecida a 60°C, depenadas, suspensas em ganchos de trilhagem aérea para a limpeza e evisceradas manual (na evisceração não foi retirada a cabeça, os pés e o pescoço). As carcaças limpas foram encaminhadas para câmara de resfriamento a 0° C, por 24 horas.

Após 24 horas de resfriamento, as carcaças foram pesadas para calcular o rendimento considerando o peso vivo antes do abate [% rendimento de carcaça = (peso carcaça *100/peso vivo)] (Mendes et al., 2004). Na desossa foram pesadas as partes da carcaça: peito com osso, coxa, sobrecoxa e asa para calcular o rendimento dos cortes em função do peso da carcaça eviscerada com pés, cabeça e pescoço [%rendimento de cortes = (peso da corte *100) /peso carcaça], de acordo com Mendes et al. (2004). Em seguida, um peito por unidade experimental foi colhido para determinação do pH e cor. Posteriormente, foram cortados em quatro amostras, que foram embaladas individualmente, identificadas e armazenadas em freezer (-18°C) até análise da qualidade física e química da carne (perda por cocção, força de cisalhamento, composição centesimal, perfil de ácidos graxos e colágeno.

2.4. Qualidade de carne de peito

As amostras de peito colhidas e armazenadas no abate foram utilizadas para verificar o pH, cor, perda por cocção (PPC), força de cisalhamento (FC), composição centesimal, perfil de ácidos graxos (PAG), colágeno total e solúvel.

Para a análise da presença de miopatia “*white striping*” e medidas morfométricas dos peitos (área, comprimento, altura e largura), utilizou-se o *software* ImageJ junto com registro fotográfico dos peitos realizado no momento do abate das aves.

2.4.1. Análises de qualidade físicas e química de peitos de frangos de corte

2.4.1.1. Análise macroscópica do peito

Para a análise macroscópica foram colhidos 96 peitos com osso durante o abate e conforme a identificação dos tratamentos. Em seguida, realizou-se o registro fotográfico conforme descrito a seguir:

- Usar o mesmo equipamento fotográfico para todos os peitos;
- A cor do fundo, iluminação, a distância entre o equipamento e os peitos permaneceram constantes;
- Fixar um objeto com unidades de medida (escala real), para a quantificação das distâncias (calibração do programa).

As fotografias foram selecionadas e inseridas no programa ImageJ, previamente calibrado em centímetros, logo em seguida medida a espessura das estrias, para examinar o grau de severidade da miopatia (*white striping*) presentes no músculo *Pectoralis*, conforme o sistema básico de identificação descrito por Kuttappan et al. (2012), em que classificam os peitos como normais (**NORM**), moderados (**MOD**) ou severos (**SEV**).

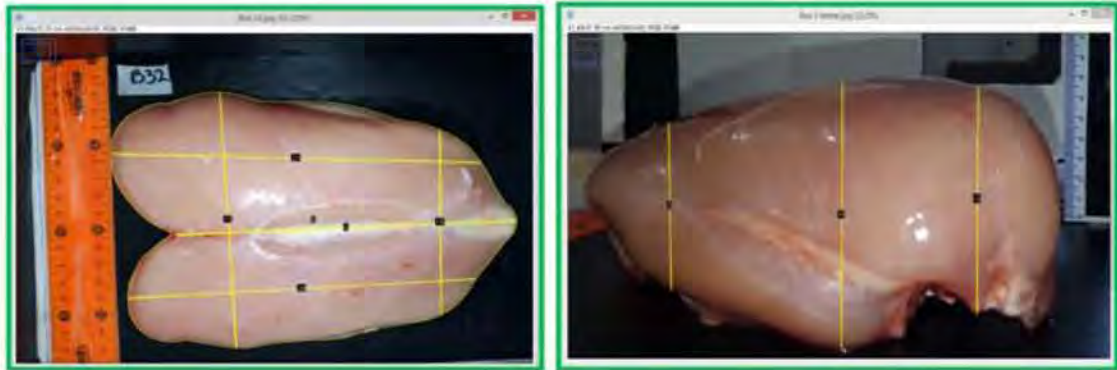
Os peitos analisados foram considerados como normais (**NORM**) quando não apresentaram estrias aparentes; moderado (**MOD**) quando as estrias foram visíveis no músculo e com espessura inferior a um (1) mm; severo (**SEV**), com estrias superiores a um (1) mm e facilmente observadas na superfície do músculo e paralelas às fibras musculares (Figura 5).

Figura 5- Análises de miopatias *white striping* no músculo *Pectoralis major*



Para obter as dimensões dos peitos, foi calibrado o programa ImageJ em centímetros, logo em seguida, foi medida a área total do peito (contorno amarelo na Figura 6), comprimento (na região central, compreendendo a porção esternal; esquerda e direita, que compreendeu as porções laterais do músculo peitoral), largura (região cranial e caudal do peito) e altura (região cranial, central e caudal do peito) ver Figura 6.

Figura 6 - Análises macroscópica (dimensões dos peitos)



Fonte: Própria autoria

2.4.1.2. *Potencial de hidrogênio (pH)*

Amostras de peito (músculo *Pectoralis major*) foram colhidas e usadas para a mensuração do pH utilizado um peagômetro digital provido de eletrodo de penetração (*Hanna Instruments Inc*®, modelo HI HI98163).

2.4.1.3. *Análise da Cor*

Determinou-se a cor do músculo na superfície de um peito por unidade experimental, colhido das carcaças de frango de corte que foram resfriadas a 0° C por 24 horas. O equipamento usado foi o colorímetro MiniScan EZ modelo 4500L (*Hunter Associates Laborator Inc*®) que utiliza o sistema CIELAB (L, a* e b*) que considera a luminosidade (L*), teor de vermelho (a*) e teor de amarelo (b*).

2.4.1.4. *Perdas de peso por cocção*

As perdas de peso por cocção (PPC) foram determinadas em amostras de peito desossado de acordo com a combinação das metodologias de Cai et al. (2018) e AMSA (2016) como descrito a seguir:

As amostras foram descongeladas, pesadas, colocadas separadamente em papel alumínio

e bandejas providas de grade para maior transferência de calor. Em seguida, as amostras foram assadas em forno elétrico (Modelo FI30/L – Fornos Elétricos Flecha de Ouro Ind. E Com. Ltda, São Paulo, Brasil) pré-aquecido a 163 °C. A temperatura interna final dos peitos foi de 77 ° C, e o monitoramento foi por meio de termômetros individuais (Modelo RisePRO-Wiresless Remote Digital Meat). Após o cozimento, os peitos foram resfriados a temperatura ambiente e pesados para determinação da PPC por diferença entre os pesos inicial e final [PPC= ((Pi-Pf)*100)/Pi], expressa em porcentagem (HONIKEL, 1998).

2.4.1.5. Força de cisalhamento

Para a análise de força de cisalhamento ou maciez objetiva, utilizaram-se amostras peito previamente cozidas e mantidas a 4°C, *over night*, em refrigerador doméstico. Após este período, realizou-se o processo de corte dos peitos, elaborando paralelepípedos de 1 cm (largura) × 1 cm (espessura) × 2 cm (comprimento) paralelamente à direção das fibras musculares, conforme Meek et al. (2000). A força necessária para cortar transversalmente cada paralelepípedo foi medida em texturômetro Brookfield *Texture Analyser* CT3 acoplado a lâmina *Warner-Bratzler*, operando em velocidade de 20 cm/s e considerando a média dos seis paralelepípedos em newtons.

2.4.1.6. Composição centesimal das amostras de peito

2.4.1.6.1. Matéria seca

Cerca de 40 g de carne de peito *in natura* foram trituradas, pesadas, acondicionadas em tubos Falcon (previamente tarados) e levadas ao liofilizador durante 72 horas. Após este período, as amostras foram pesadas novamente e os pesos anotados para cálculos da matéria seca por diferença entre os pesos iniciais e finais.

2.4.1.6.2. Proteína bruta (nitrogênio)

Proteína bruta da carne de peito foi determinada indiretamente a partir do valor de nitrogênio total (N₂) usando o Método de Kjeldahl descrito por Silva e Queiroz (2009). Cerca de 0,10 gramas de amostra seca foram adicionadas em tubo de vidro contendo mistura digestora (sulfato de sódio anidro e sulfato de cobre pentaidratado) e ácido sulfúrico (H₂SO₄). A digestão ocorreu no bloco digestor com temperatura de 350°C durante 5h. Em seguida, realizou-se no destilador de Nitrogênio MA-036 MARCONI® e com auxílio de NaOH 50%, a liberação da amônia presente na solução de sulfato de amônio. A amônia liberada foi recebida pela solução

de ácido bórico 4% com duas gotas de indicador. Aproximadamente 75 ml do composto foi titulado com HCl (0,1N e Fator ácido próximo de 1,0) até viragem do indicador. Realizou-se teste em branco, com o objetivo de eliminar interferências e contaminação dos reagentes. O teor de nitrogênio das amostras foi determinado considerando o fator de correção de 6,25 e estimado a porcentagem de proteína presente na carne como se mostra nas equações a seguir:

$$\%N_2 = \frac{(V_a - V_b)(N)(\text{Meq } N_2)}{P} \times 100$$

Sendo:

V_a: Volume de HCl gasto na titulação (mL);

V_b: Volume de HCl gasto na prova em branco (mL);

N: Normalidade padronizada;

Meq N₂: Miliequivalente grama de nitrogênio;

P: Massa da amostra (mg).

$$\% \text{ PB} = \% N_2 \times 6.25$$

Onde:

%PB: Porcentagem de proteína bruta na amostra;

%N₂: Porcentagem de nitrogênio presente na amostra;

6,25: Fator para converter o nitrogênio à proteína bruta considerando-se que a proporção de N nas proteínas das plantas é igual a 16%.

2.4.1.6.3. Cinzas da carne (material mineral)

Para a determinação da matéria mineral foram pesados 2g de peito seco em cadinhos de platina e incinerados em mufla por 4h à temperatura de 600°C. Em seguida, os cadinhos foram resfriados em dessecador e pesados. O resultado do conteúdo de cinzas nas amostras foi calculado conforme Silva e Queiroz (2009), como descrito a seguir:

$$MM(\%) = \frac{CM - CV}{CA - CV} \times 100$$

Em que:

MM: material mineral (%)

CA: peso do cadinho + amostra (g);

CV: peso do cadinho vazio (g);

CM: peso do cadinho + cinza (g);

Observação: o resultado de MM (%) foi transformado para MM (%) em Matéria natural.

2.4.1.6.4. *Lipídios totais*

A extração dos lipídeos foi realizada pelo método descrito por Folch et al. (1957). Aproximadamente 3 gramas de peito *in natura* cortado em pequenos pedaços foram pesados, adicionados a tubos Falcon com solução de clorofórmio e metanol 2:1 e homogeneizados em Ultra Turrax Marconi[®]. As amostras foram filtradas e o líquido recebeu solução de NaCl a 1,5% para posteriormente, ser centrifugado a 2500 rpm por 20 min a temperatura ambiente. Posteriormente, a fase inferior da mistura (fase com os lipídeos diluídos em clorofórmio) foi transferida a tubos de ensaio de peso conhecido. Em seguida os tubos foram colocados em bloco digestor a temperatura de 50°C, com circulação de nitrogênio gasoso até evaporação do solvente, ficando apenas a gordura. Os tubos de ensaio com a gordura foram pesados novamente para calcular a % de gordura das amostras, como se descreve a seguir:

$$LT(\%) = \frac{TE - TV}{P} \times 100$$

Em que:

LT: Lipídeos totais (%)

TE: peso do tubo + Lipídeos totais (g);

CV: peso do tubo vazio (g);

CM: peso da amostra (g);

2.4.1.6.5. *Perfil de ácidos graxos*

Os tubos de ensaio com a gordura extraída pelo método descrito por Folch et al. (1957) foram usados para a análise de perfil de ácidos graxos. Após a extração, a gordura do peito foi metilada utilizando reagentes ácidos (HCL metanóico) e básicos (metóxido de sódio), sendo os ésteres metílicos formados de acordo com Kramer et al. (1997).

Os ésteres de metil de ácidos graxos foram armazenados em freezer -80°C. Amostras de ésteres de metil foram retiradas do freezer e realizado o procedimento de padronização das diluições para a leitura no cromatografo. Uma vez definida a diluição 400 µL, foi realizada o procedimento de identificação e quantificação das 96 amostras de ésteres de metil de ácidos

graxos da carne de peito por cromatografia gasosa (CG-2010 Plus - Shimadzu, auto injetor AOC 20i), usando coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial da coluna foi de 45°C, com aquecimento progressivo até chegar a 175°C, mantendo-se por 27 minutos. Em seguida, um novo aumento de 4°C/minuto será iniciado até 215°C, mantendo-se durante 35 minutos. Utilizou-se Hidrogênio (H₂) como gás de arraste com fluxo de 40 cm³/s. A temperatura utilizada pelo detector por ionização em chama (FID) foi de 250°C, H₂ flow de 40 ml/min, air flow de 400 mL/min, Make-up de 30 mL/min kPa (N₂) e Sampling Rate de 40 msec. O tempo total da corrida por amostra (*Stop time*) foi de 86 minutos.

Os ácidos graxos foram identificados de acordo com o tempo de retenção dos ésteres de metil das amostras utilizando-se os padrões 463 Nu-Chek[®], ácido vacênico C18:1 trans-11 (V038-1G, Sigma[®]), C18:2 trans-10 cis-12 (UC-61M 100mg), CLA e C18:2 cis-9, trans-11 (UC- 60M 100mg), (Sigma[®]) e ácido tricosanóico (Sigma[®]). Os ácidos graxos foram quantificados por normalização da área dos picos dos ésteres de metil, com uso do *Software GS solution 2.42*[®]. Os ácidos graxos foram expressos em porcentagem do total de metil éster quantificado.

2.4.1.6.6. Colágeno total e solúvel

O colágeno total foi quantificado pela determinação do aminoácido hidroxiprolina, segundo metodologia proposta por Woessner Junior (1961).

Utilizou-se amostras de aproximadamente 1,5 gramas de carne liofilizada, adiciona em tubos Falcon com 12mL de solução salina, misturadas em ultra-turrax a 22.000 G e submetidas ao banho-maria por 2 horas a 80°C. Após retirar as amostras do banho foram centrifugadas a 6000 G a 2°C por 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado e adicionou-se 30 mL de 6 N HCl, em seguida, ao sedimento foram adicionados 20 mL de 6 N HCl e 8 mL de água destilada. As amostras de sobrenadante e sedimento foram submetidas à digestão em estufa de circulação de ar a 110°C por 16 horas (CROSS et al., 1973). Após a digestão, nas amostras (sobrenadante e sedimento) foi adicionado carvão ativado e em seguida, filtradas para posterior ajuste do pH (6,5 a 7,0). Uma vez regulado o pH das amostras, filtrou-se em balão de 100 mL as amostras de sobrenadante e em balão de 250 mL para o sedimento. Por último, o volume dos balões foi completado com água destilada.

Para as leituras das amostras, em tubos de ensaio com 1 mL de diluição (sobrenadante e sedimento nos balões), foi adicionado isopropanol e solução de oxidante (cloramina T/solução tampão citrato), em seguida, a mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 4 minutos. Posteriormente, a mistura recebeu a solução de Ehrlich (p-Dimethylaminobenzaldehyde/ácido perclórico 70%) e da mesma forma homogeneizada a mistura e deixada em repouso durante 4 minutos.

Após o período de repouso, as amostras foram levadas a banho-maria por 25 minutos a 60°C. Posteriormente, as amostras foram retiradas do banho, resfriadas e feita a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 560 nm. As concentrações de colágeno total e solúvel foram calculadas com equações, considerando o volume das diluições, o comprimento de onda e quantidade do músculo utilizado.

2.5. *Análise estatística*

Os efeitos da suplementação de sulfato de condroitina (α_i) e manganês (β_j), assim como a sua interação ($\alpha\beta$)_{ij}, para as variáveis de desempenho, rendimento de carcaça, cortes comerciais e qualidade de carne foram analisados de acordo com o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

Sendo:

Y_{ijk}: valor observado para a variável em estudo, referente a k-ésima repetição da combinação do i-ésimo nível do sulfato de condroitina com o j-ésimo nível de manganês;

μ : média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo;

α_i : efeito do i-ésimo nível do sulfato de condroitina no valor observado Y_{ijk};

β_j : efeito do j-ésimo nível de manganês no valor observado Y_{ijk};

($\alpha\beta$)_{ij}: Efeito da interação do i-ésimo nível do sulfato de condroitina com o j-ésimo nível de manganês;

e_{ijk}: erro associado ao valor observado Y_{ijk};

Após a análise dos resultados serem verificados quanto à presença de dados discrepantes, pressupostos de normalidade de erros de observação e homogeneidade de variâncias, foram submetidos à análise de variância, utilizando o GLM *Procedure* do sistema operacional Modelo

Linear Geral (GLM) do SAS® (SAS Institute, 2002, Cary, NC) e as médias dos resultados foram comparadas pelo teste de Tukey a significância ($P < 0,05$) e ($P < 0,10$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Avaliação do desempenho

Os resultados da análise de variância para as características desempenho dos frangos de corte na fase de 1 a 7 dias de idade são apresentadas na Tabela 5. Verificou-se que a inclusão de sulfato de condroitina (SC) nas dietas, na fase de 1 a 7 dias de idade proporcionou maiores consumos de ração, refletindo em maiores PC e GP ($P < 0,05$), quando comparados aos grupos controle (sem adição de SC), isto, sem afetar a conversão alimentar e a viabilidade criatória das aves ($P > 0,05$).

Tabela 5 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 7 dias

Fator	*Variável				
	CR	PC	GP	CA	VC
Sulfato de condroitina (SC)					
0,00 %	105,94b	153,34b	109,25b	0,963	98,61
0,06 %	108,20b	161,36a	117,07a	0,937	100,00
0,12 %	117,36a	165,83a	121,77a	0,957	100,00
0,18 %	115,36a	167,33a	123,31a	0,947	99,31
Manganês (Mn)					
0 mg/kg	110,86	171,40	117,10	0,949	98,70
40 mg/kg	113,29	164,14	120,06	0,946	99,74
80 mg/kg	111,03	160,37	116,38	0,958	100,00
ANOVA					
	Probabilidade				
SC	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,4892	0,0583
Mn	0,4523	0,3018	0,2980	0,7131	0,1126
Interação SC x Mn	0,3187	0,0658	0,0722	0,7651	0,3851
CV ¹ (%)	6,52	6,18	5,37	6,57	2,29

*Consumo de ração (CR, g); Peso corporal (PC, g); Ganho de peso (GP, g); Conversão alimentar (CA); Viabilidade criatória (VC, %).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹Coefficiente de variação.

Na fase de 1 a 14 dias verificou-se interação ($P < 0,05$) entre os fatores sulfato de condroitina (SC) e manganês (Mn) para CR, PC e GP (Tabela 6), sendo o desdobramento da interação apresentado na Tabela 7. Na Tabela 6, observou-se o mesmo comportamento da fase

anterior, em que independentemente do nível de SC ou Mn na dieta, a CA e VC não apresentou efeito significativo ($P>0,05$).

Tabela 6 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 14 dias

Fator	*Variáveis				
	CR ¹	PC ²	GP ³	CA	VC
Sulfato de condroitina (SC)					
0,00 %	383,60	346,68	302,59	1,261	97,22
0,06 %	402,21	366,78	322,46	1,250	98,61
0,12 %	424,80	384,18	340,12	1,249	100,00
0,18 %	438,25	398,67	354,74	1,245	97,92
Manganês (Mn)					
0 mg/kg	411,76	375,89	331,62	1,248	97,92
40 mg/kg	418,69	376,42	332,34	1,249	99,20
80 mg/kg	405,11	368,07	324,09	1,256	98,18
ANOVA		Probabilidade			
SC	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,2615	0,1323
Mn	0,1629	0,1238	0,1357	0,4899	0,4249
Interação SC x Mn	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,7610	0,4477
CV ⁴ (%)	7,07	6,46	7,33	2,26	4,26

*Consumo de ração (CR, g); Peso corporal (PC, g); Ganho de peso (GP, g); Conversão alimentar (CA); Viabilidade criatória (VC, %).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

^{1,2,3}Interação significativa com desdobramento na Tabela 7.

⁴Coefficiente de variação.

Observou-se efeito ($P<0,05$) dos níveis de SC dentro de cada nível de Mn (análise nas linhas), sendo de destaque a relação entre a dieta sem Mn e 0,18% de SC, visto que se observaram maiores PC e GP com maiores consumos de ração, quando comparado com as relações entre as dietas sem Mn e os demais níveis de SC (Tabela 7).

De igual forma, verificou-se influência dos níveis de SC nas dietas de 40 mg/kg de Mn, uma vez que conforme foi adicionado SC obteve-se maior PC e GP. Os maiores consumos foram verificados com as aves alimentadas com os níveis de 0,12% e 0,18% de SC na dieta com 40 mg/kg de Mn.

Em relação aos níveis de SC, na dieta com 80 mg/kg de Mn, o efeito foi variável, sendo de destaque a dieta de 80 mg/kg de Mn com 0,12% de SC, em que as aves consumiram mais alimento, resultando em maiores pesos corporais e maiores ganhos de peso, que os demais níveis de SC dentro da dieta de 80 mg/kg de Mn.

No estudo da interação dos níveis de Mn dentro de cada nível de SC (análise nas colunas) da Tabela 7, verificou-se que, indistintamente do nível de Mn usado tanto na dieta sem e com inclusão de 0,12% de SC, os resultados para PC, GP e CR foram semelhantes ($P>0,05$).

Tabela 7 - Desdobramento das médias de peso corporal, ganho de peso e consumo de ração para frangos de corte no período de 1 a 14 dias de idade

Peso corporal				
Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)				
Manganês	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	347,96Ba	372,99Bab	373,28Ba	428,83Aa
40 mg/kg	330,48Ba	378,70Aa	383,59Aa	412,89Aa
80 mg/kg	361,61Ba	349,42Bb	395,68Aa	365,59ABb
Ganho de peso				
Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)				
Manganês	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	303,69Ba	328,64Bab	329,11Ba	384,50Aa
40 mg/kg	286,42Ba	334,43Aa	339,64Aa	368,88Aa
80 mg/kg	317,65Ba	305,10Bb	351,61Aa	322,00ABb
Consumo de ração				
Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)				
Manganês	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	377,04Ba	410,96 Bab	407,39Ba	475,41Aa
40 mg/kg	372,95Ba	417,24ABa	427,13Aa	451,72Aa
80 mg/kg	399,46Ba	379,53Bb	439,90Aa	401,55Bb

Médias seguidas com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si nas colunas, maiúsculas não diferem entre si nas linhas pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Da mesma forma, os efeitos dos níveis de Mn dentro das dietas de SC (efeito nas colunas) apresentaram a combinação entre o nível de 40 mg/kg de Mn tanto com 0,06% quanto com 0,18% de SC como a relações de maiores CR, PC e GP quando comparada com as dietas de 80 mg/kg de Mn sob os mesmos níveis de 0,06% e 0,18% de SC ($P<0,05$). Contudo, resultado observado nesta fase que merece atenção, tem relação com não verificar efeitos do nível de 40 mg/kg de Mn tanto com 0,06% quanto com 0,18% de SC com relação ao CR, PC e GP quando comparada com as dietas de 0 mg/kg de Mn sob os mesmos níveis de SC ($P<0,05$). Portanto, sugere-se com cada aumentos de manganês na dieta de frangos, podem ocorrer diminuições de consumo e crescimento das aves até os 14 dias de idade.

Os resultados da análise de variância para as características desempenho dos frangos de corte na fase de 1 a 21 dias de idade são apresentadas na Tabela 8. Observou-se interação significativa entre os níveis dos fatores SC e Mn ($P<0,05$) para o CR, PC e GP com desdobramento dos resultados na Tabela 9. Para a CA, verificou-se efeito significativo ($P<0,05$) nos níveis de Mn, em que aves alimentadas com 80 mg/kg de Mn aumentaram a CA quando

comparadas àquelas alimentadas com a dieta de 0 mg/kg de Mn. O resultado da CA sugere que conforme foi adicionado Mn nas dietas de frangos de corte a CA das aves piora (menor aproveitamento de nutrientes). Para a viabilidade criatória (VC) houve influência dos níveis de SC ($P < 0,05$), independentemente dos níveis de manganês, já que quando o SC foi adicionado às dietas no nível de 0,12%, evidenciou-se menor mortalidade das aves que a dieta sem presença de SC, indicando que até 21 dias de idade as aves tiveram menor taxa de mortalidade.

Ao associar o resultado da viabilidade criatória com as condições ambientais do experimento, pode-se verificar que nas primeiras semanas de vida das aves a suplementação manteve a mortalidade mais controlada mesmo com níveis de entalpias (kJ/kg) que oscilaram entre a faixa de conforto e a faixa de alerta por frio, de acordo com as tabelas de Queiroz et al. (2012). Indicando a possibilidade que SC reduziu a suscetibilidade das aves a mudanças ambientais, não sendo necessário que as aves utilizem ajustes funcionais de resposta rápida como vasoconstrição e piloereção, que resultam em uma leve conservação da temperatura corporal, assim como, em caso de redução contínua da temperatura, o animal dependerá menos dos processos metabólicos, através do aumento da atividade muscular e aumento do consumo de ração, que conseqüentemente, incrementará a produção de calor conforme descrito por Abreu e Abreu (2012).

Tabela 8 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 21 dias

Fator	*Variáveis				
	CR ¹	PC ²	GP ³	CA	VC
Sulfato de condroitina (SC)					
0,00 %	1025,36	828,52	784,42	1,316	94,79b
0,06 %	1050,37	843,54	799,25	1,316	98,26ab
0,12 %	1093,39	873,24	829,17	1,318	99,65a
0,18 %	1093,56	888,00	843,97	1,304	97,57ab
Manganês (Mn)					
0 mg/kg	1057,00	858,34	814,05	1,302b	97,40
40 mg/kg	1078,21	866,92	822,85	1,317ab	97,40
80 mg/kg	1061,79	849,70	805,72	1,322a	97,92
ANOVA					
	Probabilidade				
SC	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,7461	0,0072
Mn	0,3689	0,2946	0,2984	0,0277	0,8836
Interação SC x Mn	0,0317	0,0102	0,0107	0,9419	0,1662
CV ⁴ (%)	5,95	5,09	5,37	1,58	4,95

*Consumo de ração (CR, g); Peso corporal (PC, g); Ganho de peso (GP, g); Conversão alimentar (CA); Viabilidade criatória (VC, %).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

^{1,2,3}Interação significativa com desdobramento na Tabela 9.

⁴Coefficiente de variação.

No desdobramento da interação para as variáveis PC, GP e CR da Tabela 9, houve dependência ($P < 0,05$) dos níveis de SC dentro de cada nível de Mn. As aves alimentadas com a dieta de 0,18% de SC e 40 mg/kg de Mn resultaram em maior PC e GP, em comparação com as aves alimentadas com os outros níveis de SC em 40 mg/kg de Mn. Os resultados do CR, indicam que independentemente do nível de SC usado em 40 mg/kg Mn, as aves consumiram maiores quantidades de alimento, que as aves alimentadas com dietas sem inclusão de SC em 40 mg/kg de Mn. De maneira geral, as características produtivas das aves que consumiram as dietas de 0,06% e 0,12% de SC em 40 mg/kg de Mn foram menores que os resultados das aves alimentadas com a dieta de 0,18% de SC e 40 mg/kg de Mn, uma vez apresentaram aves de consumos semelhantes, mas de menores GP e PC.

Os níveis de SC dentro de 80 mg/kg de manganês, permanecem com o efeito ($P < 0,05$) variável, visto que aumentos no SC levaram a comportamentos produtivos diferentes. O nível de 0,12% de SC em 80 mg/kg de Mn, pois apresenta aves com altos consumos de ração e maiores PC e GP que as aves alimentadas com dietas de 0,06% de SC em 80 mg/kg de Mn. As dietas com inclusão de 0,00% e 0,18% de SC no nível de 80 mg/kg de Mn, mesmo apresentando resultados semelhantes com a dieta de 0,12% de SC perdem potencial produtivo, por serem de igual forma, semelhantes com a dieta de 0,06% de condroitina com 80 mg/kg de manganês, que apresenta aves de baixos CR, PC e GP.

Outro aspecto interessante observado na Tabela 9, relaciona-se com o fato de não verificar efeito dos níveis de SC dentro da dieta de 0 mg/kg de manganês, indicando que até os 21 dias de idade, a inclusão de SC não se torna necessária, já que não houve diferenças nos CR, GP e PC das aves.

Na análise da interação, verificou-se diferença ($P < 0,05$) nas aves alimentadas com a dieta de 0,18% de SC, que relacionada com 40 mg/kg de Mn apresentaram superiores PC e GP em comparação às aves alimentadas com a dieta de 80 mg/kg de Mn. No CR das aves, não foi verificada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os níveis de Mn dentro de 0,18% de SC. Neste sentido, as aves alimentadas com a dieta de 0,18% de SC em 40 mg/kg de Mn obtiveram resultados mais acentuados no PC e GP, mesmo apresentando consumos semelhantes as aves das dietas sem e com adição de 80 mg/kg de Mn dentro de 0,18% de SC.

Tabela 9 - Desdobramento das médias de peso corporal, ganho de peso e consumo de ração para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade

Manganês	Peso corporal			
	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	829,10Aa	842,77Aa	863,67Aa	897,84Aab
40 mg/kg	811,37Ca	867,83Ba	868,41Ba	920,07Aa
80 mg/kg	845,09ABa	820,03Ba	887,63Aa	846,08ABb
Manganês	Ganho de peso			
	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	784,83Aa	798,49Aa	819,50Aa	853,37Aab
40 mg/kg	767,30Ca	823,56Ba	824,46Ba	876,06Aa
80 mg/kg	801,13ABa	775,70Ba	843,56Aa	802,48ABb
Manganês	Consumo de ração			
	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	1019,26Aa	1050,02Aa	1075,09Aa	1120,57Aa
40 mg/kg	1003,18Ba	1090,68Aa	1097,47Aa	1147,56Aa
80 mg/kg	1053,64ABa	1024,99Ba	1118,02Aa	1059,90ABa

Médias seguidas com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si nas colunas, maiúsculas não diferem entre si nas linhas pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os resultados da análise de variância para as características desempenho dos frangos de corte na fase de 1 a 28 dias de idade são apresentados na Tabela 10. Verificou-se diferença significativa (P<0,05) entre os fatores (SC e Mn) para todas as características de desempenho avaliadas, porém não foi observada interação (P>0,05).

Nos resultados do sulfato de condroitina, os maiores CR, PC e GP foram apresentados nas aves das dietas com 0,18% de SC quando comparadas as aves alimentadas com as dietas de 0,00% e 0,06% de SC. Para a CA e VC as aves alimentadas com 0,18% de SC foram superiores (P<0,05) aos valores apresentados nas aves alimentadas com a dieta de 0,00% de SC. Portanto, os resultados de desempenho apresentados nesta fase, descrevem o melhor comportamento produtivo das aves que consumiram a dieta de 0,18% de SC, porque com altos consumos consegue maiores PC, GP, com baixa CA e menores taxas de mortalidade. O nível de 0,12% de SC mostra resultados de desempenho semelhantes ao nível de 0,18% de SC, mas com pior CA, indicando as aves tratadas com a dieta de 0,12% de SC não transformam de igual maneira o alimento consumido em peso, que as aves alimentadas com 0,18% de SC.

Tabela 10 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 28 dias

Fator	*Variáveis				
	CR	PC	GP	CA	VC
Sulfato de condroitina (SC)					
0,00 %	2010,66c	1472,71b	1428,61b	1,41b	94,44b
0,06 %	2041,80bc	1482,83b	1438,54b	1,42ab	97,92ab
0,12 %	2110,63ab	1516,02ab	1471,96ab	1,43a	99,31a
0,18 %	2127,84a	1543,94a	1499,91a	1,42ab	97,57ab
Manganês (Mn)					
0 mg/kg	2081,01	1512,76	1468,46	1,41b	97,14
40 mg/kg	2074,12	1504,00	1459,92	1,43a	97,14
80 mg/kg	2063,06	1494,87	1450,88	1,42ab	97,66
ANOVA		Probabilidade			
SC	0,0004	<0,0031	<0,0030	0,0039	0,0088
Mn	0,7863	0,6051	0,6159	0,0061	0,8887
Interação SC x Mn	0,1612	0,0735	0,0759	0,5267	0,2328
CV ¹ (%)	5,03	4,73	4,88	1,41	5,08

*Consumo de ração (CR, g); Peso corporal (PC, g); Ganho de peso (GP, g); Conversão alimentar (CA); Viabilidade criatória (VC, %).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

¹Coefficiente de variação.

Na Tabela 10, observou-se efeito (P<0,05) dos níveis de Mn sobre a CA das aves, independentemente do nível de SC. A melhor CA foi apresentada pelas aves que consumiram a dieta de 0 mg/kg de Mn, quando comparada com as aves de 40 mg/kg de Mn. O nível de 80 mg/kg de Mn foi similar à dieta de 0 mg/kg de Mn. No entanto, como a CA das aves de 80 mg/kg de Mn apresenta semelhanças com os resultados das aves alimentadas com as dietas de pior CA (40 mg/kg Mn) tornam a dieta de menor potencial produtivo. De acordo com sutis mudanças no desempenho e piora na CA, pode-se inferir que aos 28 dias o uso de manganês pode limitar a transformação da ração consumida em ganho de peso e peso corporal das aves.

A Tabela 11 apresenta os resultados da análise de variância para o desempenho dos frangos de corte na fase de 1 a 35 dias de idade. Evidenciou-se efeito (P<0,05) dos níveis de SC sobre o CR, CA e VC, independentemente dos níveis de Mn usados na dieta. Do ponto de vista produtivo, as dietas sem inclusão de sulfato de condroitina, foram em menor proporção, consumidas pelas aves, quando comparadas com as dietas de 0,12% e 0,18% de SC. Entretanto, observaram-se aves de semelhantes PC e GP, quando comparadas àquelas suplementadas com SC.

A desvantagem de não usar SC é a maior taxa de mortalidade das aves (menor viabilidade) quando comparada à dieta de 0,12% de SC. As aves da dieta de 0,06% de SC mesmo apresentando CR semelhantes às aves das dietas de maiores consumos (0,12% e 0,18% de SC) obtiveram baixa conversão alimentar, que quando associada a nenhum efeito no PC e GP com as aves das outras dietas testadas, podem tornar o uso de 0,06% de SC de interesse produtivo.

Com relação aos níveis de Mn, observou-se influência negativa sobre a CA, já que os níveis de 40 mg/kg e 80 mg/kg de Mn foram piores na CA, que a dieta de 0 mg/kg de Mn. O efeito negativo sobre a CA pode ser explicado como neurotoxicidade induzida por excesso de exposição dietética de Mn, gerando espécies reativas de oxigênio (ERO) que podem lesar as células impedindo a transdução de sinais e a ativação de genes (KONIGSBERG, 2008; TUFARELLI E LAUDADIO, 2017)

Tabela 11 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 35 dias

Fator	*Variáveis				
	CR	PC	GP	CA	VC
Sulfato de condroitina (SC)					
0,00 %	3233,44b	2183,84	2139,74	1,514b	94,10b
0,06 %	3262,92ab	2188,25	2143,96	1,525b	96,88ab
0,12 %	3355,18a	2218,07	2174,01	1,544a	98,61a
0,18 %	3365,75a	2255,98	2211,95	1,525b	97,57ab
Manganês (Mn)					
0 mg/kg	3313,83	2235,72	2191,42	1,52b	96,62
40 mg/kg	3309,43	2202,71	2158,64	1,54a	96,62
80 mg/kg	3289,71	2196,17	2152,19	1,53a	97,14
ANOVA		Probabilidade			
SC	0,0065	0,0619	0,0612	0,0001	0,0371
Mn	0,8024	0,2592	0,2647	0,0017	0,9090
Interação SC x Mn	0,4563	0,3757	0,3811	0,0551	0,5514
CV ¹ (%)	4,68	4,63	4,73	1,45	5,69

*Consumo de ração (CR, g); Peso corporal (PC, g); Ganho de peso (GP, g); Conversão alimentar (CA); Viabilidade criatória (VC, %).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

¹Coefficiente de variação.

Os resultados da análise de variância para as características desempenho dos frangos de corte na fase de 1 a 42 dias de idade são apresentadas na Tabela 12. Verificou-se efeito dos níveis dos fatores (SC e Mn) sobre a CA (P<0,05), sendo a melhor CA apresentada pelos

frangos alimentados com a dieta sem inclusão de SC quando comparados àqueles que consumiram a dieta contendo 0,12% de SC. A semelhança na CA das aves de 0,06% e 0,18% de SC, com os frangos da dieta de 0,00% e 0,12% de SC, somada a não constatação da diferença significativa de PC, GP, CR e VC, tornam ainda mais favorável o uso da dieta, sem inclusão de SC para esta fase de criação das aves.

Com relação aos resultados dos níveis de Mn (Tabela 12), a melhor CA foi verificada nas aves sem a suplementação de Mn, quando comparada àquelas que receberam a dieta de 40 mg/kg de Mn. Constatou-se que a dieta de 80 mg/kg de Mn apresentou um comportamento semelhante, tanto com a dieta de 0 mg/kg e 40 mg/kg de Mn. Este resultado associado com o fato da ausência da diferença para as características produtivas (PC, GP, CR e VC), não viabiliza o uso dos níveis de Mn usados nesta pesquisa para a alimentação de frangos de corte com 42 dias de idade.

Tabela 12 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 42 dias

Fator	*Variável				
	CR	PC	GP	CA	VC
Sulfato de condroitina (SC)					
0,00 %	4611,93	2896,81	2852,71	1,621b	93,75
0,06 %	4644,65	2914,80	2870,51	1,623ab	95,14
0,12 %	4742,77	2931,38	2887,32	1,643a	97,92
0,18 %	4751,60	2959,36	2915,38	1,637ab	96,53
Manganês (Mn)					
0 mg/kg	4724,33	2966,48	2922,21	1,62b	96,35
40 mg/kg	4675,03	2904,36	2860,29	1,64a	94,53
80 mg/kg	4662,10	2906,14	2862,16	1,63ab	96,61
ANOVA					
	Probabilidade				
SC	0,0983	0,5805	0,5787	0,0183	0,1192
Mn	0,4943	0,2287	0,2314	0,0036	0,3468
Interação SC x Mn	0,4808	0,6469	0,6503	0,4980	0,9378
CV ¹ (%)	5,08	5,76	5,85	1,74	6,47

*Consumo de ração (CR, g); Peso corporal (PC, g); Ganho de peso (GP, g); Conversão alimentar (CA); Viabilidade criatória (VC, %).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

¹Coefficiente de variação.

Os resultados da análise de variância para as características desempenho dos frangos de corte na fase de 1 a 47 dias de idade são apresentadas na Tabela 13. Observou-se interação

significativa entre os fatores (SC e Mn) para a CA, com desdobramento na Tabela 14. A viabilidade criatória foi influenciada pelo SC ($P < 0,05$), em que a maior viabilidade (menor taxa de mortalidade das aves) permaneceu nas aves alimentadas com a dieta de 0,12 % de SC, em comparação à dieta sem adição de SC. Neste ponto, a suplementação torna-se ainda mais interessante quando é considerado os aspectos ambientais do experimento, visto que os cálculos de entalpia oscilaram entre a faixa crítica e letal nas últimas semanas de vida das aves, podendo identificar sinais de estresse térmico, com aves consumindo menos ração, bebendo mais água, aumentando a frequência respiratória, movimentando as pernas em diferentes posições, afastamento das asas do corpo e eriçando das penas. No entanto, mesmo realizando atividades para controle de temperatura e umidade, contando com o auxílio de nebulizadores e ventilação, houve aumento na taxa de mortalidade para o tratamento sem suplementação de SC.

Conforme Gu et al. (2012), quando a temperatura está acima da zona de conforto térmico, os animais podem apresentar alterações fisiológicas, por exemplo, o estresse oxidativo e a ruptura da integridade intestinal, além de vários outros distúrbios que culminam em perdas de desempenho e aumento das taxas de mortalidade. Portanto, acredita-se que a maior mortalidade do tratamento sem suplementação, seja pela falta de proteção de SC, que é um dos glicosaminoglicano capazes de reduzir os danos biológicos e a geração de radicais livres em vários casos de estresse oxidativo induzido por danos em culturas celulares (CAMPO et al., 2006).

O desdobramento da interação (Tabela 14) entre os fatores (SC e Mn) para a CA das aves apresentou efeito dos níveis de SC ($P < 0,05$), dentro da dieta sem inclusão Mn. Evidenciando-se que a melhor CA foi atingida pelos frangos da dieta de 0,00 % de SC com 0 mg/kg de Mn, em comparação àqueles alimentados com a dieta de 0,06% de SC e 0 mg/kg de Mn. As dietas de 0,12% e 0,18% de SC dentro da dieta de 0 mg/kg de Mn apresentaram resultados semelhantes, tanto com a dieta de 0,00% e 0,06% de sulfato de condroitina. No entanto, a melhor CA das aves da dieta de 0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn, associada à ausência de efeito para o PC, GP e CR nos diferentes níveis de inclusão de SC e Mn na Tabela 13, aumentam o interesse desta dieta para uso ao nível produtivo.

Nos resultados da interação na CA para os níveis de manganês dentro de cada nível de SC. Observou-se efeito significativo ($P < 0,05$), destacando que as aves de melhor CA foram alimentadas com a dieta de 0,00% de SC e 0 mg/kg de Mn, em comparação aos frangos alimentados com as dietas de 40 mg/kg e 80 mg/kg de manganês. Sugere-se, portanto, como já

descrito anteriormente, o uso da dieta sem suplementação de SC e Mn, já que as aves apresentaram melhor CA, sem comprometer as demais características produtivas (PC, GP e CR).

Tabela 13 - Médias observadas para o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 47 dias

Fator	*Variáveis				
	CR	PC	GP	CA ¹	VC
Sulfato de condroitina (SC)					
0,00 %	5469,22	3272,97	3228,93	1,706	88,54b
0,06 %	5509,87	3280,39	3236,10	1,709	88,86ab
0,12 %	5592,57	3288,53	3244,47	1,726	96,01a
0,18 %	5627,82	3347,63	3303,55	1,713	92,71ab
Manganês (Mn)					
0 mg/kg	5585,19	3338,43	3294,13	1,698	94,44
40 mg/kg	5495,39	3251,02	3206,94	1,723	89,84
80 mg/kg	5570,39	3302,19	3258,22	1,720	91,15
ANOVA					
	Probabilidade				
SC	0,3881	0,7082	0,7076	0,2264	0,0153
Mn	0,5064	0,3108	0,3125	0,0108	0,0852
Interação SC x Mn	0,5682	0,7774	0,7785	0,0307	0,9732
CV ² (%)	5,95	6,93	7,02	2,07	9,16

*Consumo de ração (CR, g); Peso corporal (PC, g); Ganho de peso (GP, g); Conversão alimentar (CA); Viabilidade criatória (VC, %).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

¹Interação significativa com desdobramento na Tabela 14.

²Coefficiente de variação.

Tabela 14 - Desdobramento das médias de conversão alimentar para frangos de corte no período de 1 a 47 dias de idade

Manganês	Conversão Alimentar			
	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	1,669Bb	1,724Aa	1,705ABa	1,694ABa
40 mg/kg	1,722Aa	1,703Aa	1,744Aa	1,724Aa
80 mg/kg	1,727Aa	1,699Aa	1,729Aa	1,722Aa

Médias seguidas com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si nas colunas, maiúsculas não diferem entre si nas linhas pelo teste de Tukey (P<0,05).

3.2. Avaliação das características de carcaça

O rendimento de carcaça e cortes comerciais para frangos de corte aos 47 dias de idade encontram-se na Tabela 15. Verificou-se interação significativa ($P < 0,05$) entre os fatores SC e Mn para os rendimentos de coxa (Cx) sobrecoxa (SCx) - pés e asas (AS), com desdobramento na Tabela 16.

Na Tabela 15, observou-se efeito ($P < 0,05$) dos níveis de sulfato de condroitina no rendimento de peito e cabeça dos frangos de corte, independentemente dos níveis de Mn usados nas dietas. As aves suplementadas com 0,18% de SC apresentaram maior rendimento de peito que os frangos alimentados com a dieta sem inclusão SC. Os frangos suplementados com as dietas de 0,06% e 0,12% de SC que apresentam rendimentos de peito semelhantes com as aves da dieta com 0,18% de SC, permitem inferir que aumentos na suplementação de SC resultaram em incrementos no rendimento de peito de frangos de corte.

Em relação ao efeito do SC sobre o rendimento de cabeça, na Tabela 15, verificaram-se maiores porcentagens do corte nas aves alimentadas com dietas de 0,00% e 0,12% de SC, quando relacionados com os rendimentos de cabeça das aves alimentadas com 0,18% de SC.

Tabela 15 - Médias observadas da análise de variância para as características de carcaça de frangos de corte aos 47 dias de idade

Fator	*Variáveis (%)					
	RC	Pt	Cx+SCx+Pés ¹	AS ²	DS	CaP
Sulfato de condroitina (SC)						
0,00 %	82,61	28,70b	32,99	9,47	20,86	7,69a
0,06 %	82,42	29,24ab	32,66	9,52	20,86	7,62ab
0,12 %	82,24	28,83ab	32,89	9,47	20,95	7,68a
0,18 %	82,52	29,61a	32,52	9,46	20,74	7,49b
Manganês (Mn)						
0 mg/kg	82,45	29,11	32,75	9,47	20,87	7,61
40 mg/kg	82,28	29,05	32,97	9,46	20,81	7,58
80 mg/kg	82,61	29,13	32,57	9,51	20,89	7,67
ANOVA			Probabilidade			
SC	0,4427	0,0156	0,1295	0,8141	0,4533	0,0483
Mn	0,3096	0,9493	0,1176	0,6885	0,8220	0,3812
Interação SC x Mn	0,1636	0,6138	0,0155	0,0128	0,3243	0,3555
CV ³ (%)	1,75	6,39	4,07	4,53	3,87	6,06

*Rendimento de carcaça (RC); Peito (Pt); Coxa (Cx) + sobrecoxa (SCx) + Pés; Asas (AS); Dorso (DS); Cabeça com pescoço (CaP).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

^{1,2}Interação significativa entre os fatores com desdobramento na Tabela 16.

³Coefficiente de variação.

No desdobramento da interação para o rendimento de coxa – sobrecoxa - pés (Tabela 16), observou-se diferença (P<0,05) entre os níveis de sulfato de condroitina dentro da dieta de 0 mg/kg de Mn, em que o maior rendimento de coxa – sobrecoxa - pés foi observado nas aves alimentadas com a dieta de 0,00% de SC e 0 mg/kg de Mn, quando relacionado aos rendimentos do nível de 0,18% de SC e 0 mg/kg Mn.

Ao observar as relações entre os níveis de 0,06% e 0,12% de SC dentro da dieta de 0 mg/kg de Mn (Tabela 16), verifica-se que, mesmo sem apresentar diferença (P>0,05) com a dieta de 0% de SC e 0 mg/kg de Mn, cada aumento no nível de SC leva a diminuição nos rendimentos de Coxa – Sobrecoxa-Pés. Indicando que sem presença de Mn nas dietas a suplementação de SC pode prejudicar os rendimentos de Coxa – Sobrecoxa-Pés.

Em relação à análise dos níveis de Mn, dentro das dietas de SC, verificou-se efeito (P<0,05) na dieta com 0,18% de SC, em que o maior rendimento de Coxa – Sobrecoxa-Pés foi apresentado quando usada a dieta em combinação com 40 mg/kg de Mn.

Tabela 16 - Desdobramento das médias dos rendimentos de asas (AS) e coxa (Cx)+ sobrecoxa (SCx) + pés para frangos de corte aos 47 dias de idade

Manganês	Coxa – Sobrecoxa-Pés			
	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	33,31Aa	33,05ABa	32,58ABa	32,05Bb
40 mg/kg	32,67Aa	32,80Aa	33,25Aa	33,17Aa
80 mg/kg	33,00Aa	32,14Aa	32,85Aa	32,29Ab
Manganês	Asas			
	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	9,57Aa	9,44Aa	9,53Aa	9,34Ab
40 mg/kg	9,41Aa	9,58Aa	9,52Aa	9,31Ab
80 mg/kg	9,45ABa	9,54ABa	9,35Ba	9,70Aa

Médias seguidas com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si nas colunas, maiúsculas não diferem entre si nas linhas pelo teste de Tukey (P<0,05).

A análise da interação para o rendimento de asas (Tabela 16) apresentou efeito (P<0,05) entre os níveis de sulfato de condroitina, dentro da dieta de 80 mg/kg de Mn (análise na linha). As aves alimentadas com 0,18% de SC e 80 mg/kg de Mn resultaram em maiores rendimentos

de asas, quando comparadas àquelas que receberam 0,12% de condroitina no mesmo nível de Mn.

Para a análise do rendimento de asas, foi verificado efeito do aumento da concentração de manganês na dieta com 0,18% de SC ($P < 0,05$), encontrando-se que a suplementação de Mn influencia positivamente o rendimento de asas dos frangos de corte, quando é usada principalmente em relação com a dieta de 0,18% de SC com 80 mg/kg de Mn.

Em geral, resultados das combinações de Mn dentro dos níveis 0,00%, 0,06% e 0,12% (Tabela 16) não apresentaram efeito ($P > 0,05$) para os rendimentos de coxa – sobrecoxa-pés e asas, indicando que dentro desses níveis de inclusão de SC o aumento de Mn não resulta em maiores rendimentos de perna e asas em frangos de corte.

3.3. *Qualidade física e química da carne*

O pH e os parâmetros L^* , a^* e b^* dos peitos de frango são apresentados na Tabela 17. Evidenciou-se interação entre os fatores SC e Mn para o pH com desdobramento, apresentado na Tabela 18. Os resultados dos parâmetros L^* , a^* e b^* foram diferentes ($P < 0,10$) para os níveis de SC, independentemente do nível de Mn, permitindo verificar valores inferiores de L^* para os peitos com 0,12% e 0,18% de SC, em comparação com dieta sem presença de SC. Os resultados do L^* desta pesquisa, estão muito acima dos níveis considerados normais para peito de frango de corte ($L^* = 44,0$ a $53,0$) de acordo com Soares et al. (2002) e superiores aos peitos normais do estudo de Baldi et al. (2017), que informaram valores de luminosidade de 54,4 a 56,4. Portanto, o resultado indica que independentemente dos níveis de SC e Mn nas dietas os peitos tiveram aumento na palidez. Os altos níveis de luminosidade dos peitos neste estudo, podem estar associados com a interferência das dietas na via glicolítica do músculo peitoral, pois conforme Banks (1992) Huang e Ahn (2018) frangos de corte das linhagens atuais são em sua maior parte formados por fibras glicolíticas (com poucas mitocôndrias e mioglobina o que explica a sua coloração clara) e o maior número de fibras IIB no músculo do peito pode causar alterações bioquímicas devido a sua maior atividade glicolítica.

Os cromas a^* e b^* apresentam efeito ($P < 0,10$) dos níveis de SC independentemente dos níveis de Mn (Tabela 17), sendo os peitos da dieta de 0,18% de SC superiores no croma a^* em comparação ao valor a^* da dieta sem adição de SC. Da mesma forma, a dieta com 0,18% de SC apresenta superioridade no valor de b^* , quando comparada com a dieta de 0,06% de SC. Indicando que aumentos na suplementação de sulfato de condroitina na dieta interfere no

metabolismo muscular dos frangos de corte, em que dependendo dos processos bioquímicos do músculo da ave pode ter uma participação na troca do tipo de fibra, levando a uma alta expressão dos genes da mioglobina e, portanto, a músculos mais vermelhos (MUTRYN et al., 2015), assim como, o aumento no teor de amarelo pode estar relacionado com processos de lipídose e fibrose (PETRACCI et al., 2019).

Em relação aos níveis de Mn na dieta, foi verificado efeito ($P < 0,10$) sobre o valor de b^* , independentemente do nível de SC. Observa-se que os peitos da dieta de 0 mg/kg de Mn apresentam maior b^* que os peitos dos frangos que consumiram a dieta com 80 mg/kg de Mn.

Os resultados para o valor de a^* e b^* , mesmo com o sem efeito dos fatores SC e Mn, foram superiores aos normais descritos por Soares et al. (2002) sendo a^* de 2,32 e b^* de 11,66 em frangos criados no verão. Da mesma forma, os valores deste estudo foram diferentes aos resultados de Kralik et al. (2014), Baldi et al. (2017) e Lucca et al. (2019) que estudando frangos de corte obtiveram valores normais para a^* oscilando de 0,89 a 1,87 e para o croma b^* o intervalo apresentado pelos autores foi de 5,89 a 10,30. Os peitos que apresentaram maiores valores de L^* , a^* e b^* quando comparados com os peitos classificados como normais, pode ser explicado porque neste estudo os peitos apresentaram efeito da miopatia “*white striping*” que conforme Petracci et al. (2013) a condição *white striping* nos peitos de frangos é suficiente para determinar maior vermelhidão e maior teor de amarelos na carne em comparação com os peitos de frango normais.

Para PPC e FC não foi observado efeito ($P > 0,10$) em relação às dietas (Tabela 17). Os resultados expressam que as inclusões de SC e Mn não influenciaram o PPC e FC. No entanto, os valores de PPC estão dentro do intervalo de perdas por cocção normais em carne de frango (17,20% a 25,77%) apresentado na associação dos trabalhos de Woelfel et al. (2002), Zhang e Barbut (2005), Mudalal et al. (2014), Carvalho et al. (2017) e Lucca et al. (2019). As médias dos valores de força de cisalhamento (FC) estão dentro do intervalo de classificação de carne de frango altamente macia, caracterizada por valores de força de cisalhamento entre 18,39 e 28,64 N (BRESSAN E BERAQUET, 2004). No entanto, ao considerar os resultados de Mudalal et al. (2014) e Lucca et al. (2019), avaliando a qualidade de peito de frangos de corte em trabalhos mais atuais, os autores apresentaram que a FC pode variar de 1,87 kgf (18,14N) a 2,37kgf (23,24N). Portanto, com relação aos trabalhos anteriores, sugere-se que os níveis de suplementação do sulfato de condroitina e manganês na dieta de frangos não alteraram a FC da carne de peito, e como a FC dos peitos das dietas experimentais oscilou entre 17,740 e 19,545

N, pode-se afirmar que a carne de peito deste estudo apresenta características normais de carne extremamente macia.

Tabela 17 - Médias observadas nos resultados de qualidade física da carne de peitos de frangos de corte

Fator	pH ²	Cor ¹			PPC	FC
		L*	a*	b*		
Sulfato de condroitina (SC)						
0,00 %	5,82	65,87a	4,64b	13,25ab	22,28	18,956
0,06 %	5,84	64,53ab	4,96ab	13,08b	22,22	18,867
0,12 %	5,83	64,17b	5,31ab	13,66ab	23,46	19,034
0,18 %	5,84	64,75ab	5,35a	14,13a	25,88	17,740
Manganês (Mn)						
0 mg/kg	5,81	65,16	5,05	14,04a	24,27	19,545
40 mg/kg	5,87	65,02	5,09	13,31ab	23,01	18,025
80 mg/kg	5,82	64,29	5,00	13,28b	23,07	18,387
ANOVA		Probabilidade				
SC	0,7641	0,0684	0,0474	0,0565	0,1278	0,3984
Mn	0,0038	0,2616	0,9001	0,0488	0,6439	0,1108
Interação SC x Mn	0,0765	0,4808	0,3294	0,2793	0,3963	0,2965
CV ³ (%)	1,19	3,58	18,81	10,32	25,05	16,04

Potencial de Hidrogênio (pH); Perdas por cocção (PPC, %); Força de cisalhamento (FC, N).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹L*: Luminosidade; a*: Teor de vermelho; b*: Teor de amarelo.

²Interação significativa com desdobramento na Tabela 18.

³Coefficiente de variação.

Os níveis de SC dentro da dieta de manganês não interferiram (P<0,10) no pH dos peitos de frango (Tabela 18), indicando que, independentemente do nível de SC dentro de cada nível de manganês o potencial de Hidrogênio foi semelhante. De forma geral, os valores de pH da Tabela 18 foram próximos aos pH de 5,80 e 5,86, considerados normais para frango de corte dos estudos de Mudalal et al. (2014) e Baldi et al. (2017), respectivamente.

Tabela 18 - Desdobramento das médias do potencial de Hidrogênio (pH) de peitos de frangos de corte

Manganês	pH			
	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	5,83Aa	5,81Ab	5,83Aa	5,77Ab
40 mg/kg	5,85Aa	5,90Aa	5,83Aa	5,90Aa
80 mg/kg	5,79Aa	5,82Ab	5,84Aa	5,84Aab

Médias seguidas com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si nas colunas, maiúsculas não diferem entre si nas linhas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Para as relações entre os níveis de Mn dentro dos níveis de SC, observou-se influência ($P < 0,10$) do Mn na dieta, com adição de 0,06% e 0,18% de SC, sendo os menores valores de pH atingidos pelas dietas de 0 mg/kg e 80 mg/kg de Mn, em comparação com o nível de 40 mg/kg Mn nos mesmos níveis de SC. Estes resultados indicam que os tratamentos influenciam o pH dos peitos de frango. No entanto, os efeitos não excedem o intervalo de normalidade de pH (5,8 a 5,87) para peitos de frangos de corte descritos por Kralik et al. (2014), Mudalal et al. (2014) e Baldi et al. (2017), evitando-se defeitos na qualidade como o PSE (pale, soft, exudative) caracterizado por $\text{pH} < 5,7$ (LESIÓW e KIJOWSK, 2003). De igual maneira, pode indicar diminuição de problemas com miopatias que são associados a peitos de frangos com $\text{pH} > 5,90$ (MUDALAL et al., 2014; BALDI et al., 2017).

Os resultados da proteína bruta, matéria seca, lipídeos totais e cinzas e teor de colágeno (total e solúvel) de peito de frangos de corte de 47 dias de idade encontram-se na Tabela 19. Verificou-se que os níveis dos fatores (SC e Mn) não afetaram a composição centesimal dos peitos de frangos de corte. Contudo, os resultados de MS, PB e cinza, neste estudo, foram muito próximos àqueles relatados por Rosa et al. (2006), que avaliaram peitos crus de frangos da linhagem Cobb e obtiveram valores de 25,16 para MS, 91,53% de PB e 4,25% para cinzas. Com relação aos resultados Novello et al. (2008), os valores atingidos nesta pesquisa foram superiores, visto que os autores avaliaram peitos de frangos de corte alimentados com ração convencional conforme as tabelas brasileiras de aves de suínos e obtiveram PB de 84,96% em matéria seca e lipídeos totais de 1,23% em matéria natural. De igual maneira, Santos et al. (2019) verificaram composição centesimal de peitos de frango cobb 500 e reportaram valores de PB (77,26%) e cinza (4,41%) inferiores aos apresentados na Tabela 19, só a porcentagem de matéria seca dos autores (29,38%) foi superior que a MS dos peitos avaliados nesta pesquisa.

Para os resultados de colágeno total e solúvel, não foi verificado efeito ($P > 0,05$) dos níveis de suplementação de sulfato de condroitina e manganês em frangos de corte. No entanto, ao verificar os valores de colágeno citados na literatura, encontrou-se que os resultados de colágeno desta pesquisa são semelhantes aos teores de colágeno total ($0,250\% = 2,5\text{mg/g}$ em matéria natural) e colágeno solúvel ($0,139\% = 1,39\text{ mg/g}$ em matéria natural) considerados valores normais em peitos de frangos de corte conforme o estudo de Lucca et al. (2019).

Contudo, Baldi et al. (2017) descreveram que teores de colágeno total acima de 0,86 % em base matéria seca, estão associados com problemas de qualidade de carne, como as miopatias. Quando verificados os resultados de colágeno total da Tabela 19, observou-se que o nível de 0,06% de SC (menor teor de colágeno total com 2,29 mg/g ou 0,928% em base seca) e a dieta de 0,18% de sulfato de condroitina (maior valor de colágeno total com 2,39 mg/g ou 0,987% em base seca), representam limites superiores ao nível de colágeno descrito por Baldi et al., (2017), indicando que os peitos produto desta pesquisa, independentemente da suplementação, apresentam teores de colágeno característicos de peitos com miopatia.

Tabela 19 - Médias observadas para qualidade química da carne de peitos de frango

Fator	PB (%)*	MS (%)*	LT (%)**	Cinza (%)*	Colágeno (mg/g)**	
					Total	Solúvel
Sulfato de condroitina (SC)						
0,00 %	90,99	24,83	1,39	5,08	2,31	1,059
0,06 %	91,09	24,68	1,46	5,02	2,32	1,081
0,12 %	91,59	24,19	1,33	4,97	2,38	1,058
0,18 %	90,45	24,22	1,56	5,20	2,39	1,061
Manganês (Mn)						
0 mg/kg	90,24	24,37	1,51	5,11	2,31	1,048
40 mg/kg	91,69	24,56	1,32	5,09	2,34	1,059
80 mg/kg	90,98	24,50	1,47	5,01	2,40	1,088
ANOVA			Probabilidade			
S	0,7900	0,2950	0,3107	0,1525	0,9393	0,9934
Mn	0,4282	0,8940	0,1872	0,5531	0,7261	0,8638
Interação S x Mn	0,5980	0,1039	0,1649	0,1943	0,9038	0,9288
CV ¹ (%)	4,28	5,80	34,66	7,17	19,84	28,60

PB: proteína bruta; MS: matéria seca; LT: Lipídeos totais.

Sulfato de condroitina (S, %p/p: kg de SC/ kg de ração).

*As análises são expressas em base de matéria seca.

**As análises são expressas em base de matéria natural.

¹Coefficiente de variação.

Os resultados na análise morfométrica do peito são apresentados na Tabela 20. Verificou-se interação ($P < 0,05$) entre os fatores sulfato de condroitina e manganês para a largura caudal e cranial dos peitos, o desdobramento da interação é apresentado na Tabela 21.

Os níveis de suplementação de SC e Mn não afetaram ($P > 0,05$) a área, comprimento, altura e tamanho das estrias dos peitos (Tabela 20). Observou-se que os níveis de suplementação de ambos os fatores (SC e Mn) não foram suficientes para resultar em mudanças morfométricas dos peitos de frangos de corte aos 47 dias de idade.

Tabela 20 - Médias observadas para a análise morfométrica da carne de peitos de frango

Fator	Área (cm ²)	Comprimento (cm)	Largura (cm) ¹		Altura (cm)	Estria (mm)
			Cranial	Caudal		
Sulfato de condroitina (SC)						
0,00 %	271,72	19,52	15,83	10,56	12,46	0,70
0,06 %	273,61	19,60	16,04	10,40	12,29	0,67
0,12 %	273,86	19,90	15,86	10,51	12,29	0,65
0,18 %	280,12	19,91	16,24	10,67	12,37	0,71
Manganês (Mn)						
0 mg/kg	275,64	19,86	16,01	10,59	12,32	0,72
40 mg/kg	274,82	19,60	15,97	10,55	12,59	0,69
80 mg/kg	274,17	19,72	16,01	10,47	12,14	0,63
ANOVA			Probabilidade			
SC	0,4984	0,2403	0,1546	0,7242	0,9371	0,9222
Mn	0,9771	0,4374	0,9651	0,8253	0,2389	0,5214
Interação SC x Mn	0,2322	0,5444	0,0083	0,0472	0,3013	0,8122
CV ² (%)	7,34	4,11	4,30	7,45	8,7	47,21

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

¹Interação significativa com desdobramento na Tabela 21.

²Coefficiente de variação.

Cabe destacar que, de acordo com os tamanhos de estrias da Tabela 20, os peitos foram classificados como com presença de miopatia “*white striping*” moderada (estriações <1mm). No entanto, o tratamento sem inclusão de SC e Mn, proporcionou maiores tamanhos de estria (0,78mm) no músculo *pectoralis major* quando comparadas com as estrias dos peitos dos tratamentos de 0,18% de SC com 80 mg/kg de Mn (0,064mm) e a dieta de 40 mg/kg de Mn sem inclusão de SC (0,064mm). Este resultado pode sugerir que os tratamentos tiveram um efeito sobre a miopatia que como descrito por Kuttappan et al. (2013) conforme aumenta a severidade da miopatia aumenta o tamanho das estrias, por causa do aumento nas fibras degenerativas e atroficas associadas à perda de estriações cruzadas, variação no tamanho da fibra, degeneração flocular ou vacuolar e lise das fibras, mineralização leve, regeneração ocasional das fibras, infiltração de células mononucleares, lipidose e inflamação intersticial e fibrose.

Os resultados da interação (Tabela 21) apresentaram efeito dos níveis de SC dentro da dieta de 40 mg/kg manganês para a largura da região cranial dos peitos dos frangos (P<0,05),

em que as maiores larguras craniais dos peitos foram apresentadas nos frangos alimentados com 0,06% e 0,18% de SC quando comparadas aos peitos das aves sem inclusão de SC.

De igual forma, verificou-se influência dos níveis de Mn dentro do nível de 0,00% de sulfato de condroitina para a largura da região cranial dos peitos dos frangos ($P < 0,05$) (Tabela 21). Os frangos que apresentaram menor largura cranial foram aqueles alimentados com 40 mg/kg manganês, quando comparado com os peitos dos níveis de 0 mg/kg e 80 mg/kg de Mn (comparação dos níveis de Mn nas dietas sem inclusão de SC).

Tabela 21 - Desdobramento das médias para largura dos peitos de frangos de corte aos 47 dias de idade suplementados com sulfato de condroitina e manganês na dieta.

Largura Cranial				
Manganês	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	16,23Aa	15,77Aa	15,81Aa	16,22Aa
40 mg/kg	15,13Bb	16,42Aa	15,76ABa	16,55Aa
80 mg/kg	16,13Aa	15,92Aa	16,02Aa	15,96Aa
Largura Caudal				
Manganês	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	11,01Aa	9,83Bb	10,59ABa	10,92ABa
40 mg/kg	10,54Aa	10,87Aa	10,43Aa	10,36Aa
80 mg/kg	10,12Aa	10,51Aab	10,52Aa	10,72Aa

Médias seguidas com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si nas colunas, maiúsculas não diferem entre si nas linhas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os níveis de Mn dentro do nível de 0,06% de sulfato de condroitina para a largura da região caudal dos peitos dos frangos ($P < 0,05$), sendo a maior largura caudal apresentada nos peitos das aves alimentadas com a relação de 0,06% de SC com 40 mg/kg manganês, quando comparado com os peitos dos níveis de 0 mg/kg e 80 mg/kg de Mn no mesmo nível de 0,06% de SC.

Em relação à largura da região caudal dos peitos, verificou-se interação entre os níveis de sulfato de condroitina, dentro do nível de 0 mg/kg de Mn. Os frangos alimentados com 0,06% apresentaram a menor largura caudal, quando comparados aos peitos dos frangos alimentados com dietas sem inclusão de sulfato de condroitina. Esperava-se que com cada aumento de Sulfato de condroitina, a largura caudal dos peitos fosse menor ou totalmente diferente que os peitos das aves que não receberam suplementação com sulfato de condroitina, mas este aspecto não foi verificado neste estudo.

Destaca-se que alterações morfométricas dos peitos estão associadas com defeitos de qualidade de carne como as miopatias (BALDI et al., 2018; PETRACCI et al., 2019). Neste experimento devido a todos os peitos avaliados apresentarem a condição de miopatia *white striping* moderada, não foi possível evidenciar diferenças marcantes nas na área, comprimento e altura. No entanto, a maior largura caudal dos peitos do tratamento controle (sem inclusão de SC e Mn) apresentam um resultado interessante, pois peitos mais largos na região caudal são característicos de peitos com miopatia *wooden breast* (WB), uma condição agressiva, que atinge os peitos de frangos de corte e caracterizada por músculos duros, pálido, com protuberâncias na região caudal do peito (aumento da largura) e muitas vezes acompanhado de listras brancas (SIHVO et al., 2014). Portanto, a largura da região caudal pode indicar que os peitos das aves sem suplementação sofreram os processos fisiológicos característicos das linhagens atuais de frangos de corte, conduzindo ao aumento da severidade da miopatia.

De igual forma, as aves com miopatia *white striping* geralmente apresentam alterações nas medidas do músculo peitoral, especialmente no peso do peito, rendimento, comprimento e altura, sendo a largura a única medida no peito, que não é afetada pela *white striping* (PETRACCI et al., 2019). Portanto, o aumento na largura caudal dos peitos das aves não suplementadas com SC e Mn, esteve relacionada com a condição severa da miopatia *white striping*, em comparação as outras dietas. Estes peitos, segundo Mudalal et al. (2015) podem estar na fase inicial da degeneração muscular e torna-se *wooden breast* (WB) em um estágio posterior do desenvolvimento.

No presente estudo, o nível de 0,06% de sulfato de condroitina merece destaque, visto que independentemente da sua relação com manganês, apresentou peitos de frangos que em média tiveram comprimento de 19,60 cm (Tabela 20), e quando foi fornecida aos frangos, na relação de 0,06% de SC com 0 mg/kg de Mn apresentaram peitos de largura cranial de 15,77 cm e largura caudal de 9,83 cm (Tabela 21). Mudalal et al. (2015) relataram comprimento e largura considerados normais para peitos sem estrias (comprimentos: 19,50 cm e largura de aproximadamente: 15,74 cm). Este aspecto é interessante porque o nível de 0,06% de sulfato de condroitina manteve dados morfométricos normais mesmo apresentando a condição de miopatia *white striping* que, segundo Petracci et al. (2019) a miopatia afeta as características morfológicas dos peitos, com aumento de comprimentos e larguras.

De acordo com Baldi et al. (2017), Mudalal et al. (2014) e Lucca et al. (2019), o músculo peitoral acometido com a condição “*white striping*” apresentam $\text{pH} > 5,9$; luminosidade entre

54,3 a 56,2; teor de vermelho (a^*) de 0,82 a 1,72; teor de amarelo (b^*) oscila de 2,70 a 12,6; perdas por cocção de 18,21% a 24,7% e força de cisalhamento de 18,14N a 23,24N (1,85kgf a 2,35kgf); proteína de 21,54% a 23,6%; lipídeos entre 2,055 a 2,475, material mineral de 1,15% a 1,40%; colágeno total de 0,249% a 0,352% e colágeno insolúvel de 0,138% a 0,168%. No entanto, ao comparar as características químicas e física anteriores, com os resultados dos peitos deste estudo, que também apresentaram a condição de miopatia “*white striping*”, observou-se diferenças, visto que os peitos deste estudo obtiveram pH de aproximadamente 5,8; com valores superiores nos parâmetros da cor, lipídeos e material mineral, assim como menor colágeno solúvel. Portanto, pode-se inferir que as dietas interagiram com o desenvolvimento muscular dos frangos, influenciando o conjunto de reações bioquímicas que acontecem na fibra muscular dos peitos. Também, ao considerar o descrito por Huang e Ahn (2018), que frangos de corte das linhagens atuais apresentam maior número de fibras IIB no músculo do peito, e este tipo de fibras podem causar alterações bioquímicas devido a sua maior atividade glicolítica. A metabolômica pode ajudar no entendimento das reações bioquímicas e metabólitos diferencialmente expressos nos peitos deste estudo, para determinar de maneira mais precisa a causa das diferenças com as características típicas da miopatia *white striping*.

Os resultados da análise de variância para os ácidos graxos saturados (AGS) da carne de peito são apresentados na Tabela 22. Observou-se que os peitos de aves alimentadas com níveis de 0,06% e 0,12% de SC aumentaram a concentração de C9:0 e diminuíram a porcentagem de C16:0, quando comparados com os resultados de C9:0 e C16:0 das amostras de peito de frangos alimentados com a dieta sem SC ($P < 0,05$). Para este caso, apesar do aumento nas concentrações de ácido nonanóico devido as inclusões de SC, a menor cadeia carbônica da estrutura do AGS faz dele mais solúvel (MARTINS et al. 2013), sendo mais fácil a sua degradação pelo organismo, diminuindo os riscos para a saúde humana. Já o efeito dos níveis de SC sobre o ácido palmítico, descreve um aumento na qualidade da carne de peito dos frangos e a sua relação com a saúde humana, tendo em vista que este ácido foi associado com aumento no risco de doenças cardiovasculares (aumento de colesterol total e LDL), risco de câncer e diabetes tipo 2 (MENSINK, et al. 2003; FOROUHI et al., 2014; DEVERS E BROWN, 2020) assim como é causante da disfunção mitocondrial mediada por estresse oxidativo, efeito conhecido como lipotoxicidade (DEVERS E BROWN, 2020).

Para o nível de 0,18% de SC os principais efeitos ($P < 0,05$) foram a diminuição do C10:0, quando comparado com as carnes de peito de aves alimentadas com dieta de 0,12% de SC.

Houve aumento na concentração de C14:0, quando é relacionado o nível de 0,18% de SC com os resultados das carnes de peitos das demais dietas suplementadas com SC. Outro resultado importante do nível de 0,18% de SC é que de igual maneira que o nível de 0,00% de SC, aumentou a porcentagem de C16:0, proporcionando diferenças com os outros níveis de suplementação de SC (0,06 e 0,12%) na dieta de frangos de corte. Este resultado determina que a inclusão de SC pode apresentar limites para sua suplementação nas dietas de frangos de corte sem afetar a qualidade de carne, visto que aumentar o SC até o nível de 0,18%, atingiu altas concentrações dos mirístico e palmítico, dois ácidos graxos saturados com efeitos adversos na saúde humana. De acordo com Calder (2015), estudos têm demonstrado excessos destes ácidos na dieta aumentam a atividade coagulante do sangue (estado pró-coagulatório), condição relacionada com doenças coronárias. Da mesma forma, Forouhi et al. (2014) e Mensink et al. (2003) relataram que concentrações circulantes de ácido mirístico e palmítico elevaram o risco de diabete tipo 2 e aumento do colesterol total e LDL, com um sutil efeito de aumento do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL).

De maneira geral, as baixas concentrações de ácido mirístico e palmítico na carne de peito de frangos de corte alimentados com os níveis de 0,06% e 0,12% de SC, determinam a melhora na qualidade da carne, apesar dos efeitos destes níveis nas concentrações de ácidos graxos como nonanóico e cáprico. No entanto, estes dois últimos ácidos graxos representam menor risco para a saúde humana, devido a sua cadeia carbônica ser de menor tamanho, condição que torna ela mais hidrofóbica, aumentando a sua solubilidade e capacidade de degradação pelo organismo (MARTINS et al., 2013). Já Calder (2015), acrescentou que o ácido palmítico prejudica a atividade fibrinolítica do plasma.

Na Tabela 22, observou-se influência ($P < 0,05$) dos níveis de manganês sobre C15:0 e C20:0. Para o C15:0, assim como para C20:0, o nível de 40 mg/kg de Mn apresentou as menores porcentagens, em relação as aves alimentadas com 80 mg/kg de Mn.

De modo geral, os resultados da inclusão de níveis de manganês nas dietas de frango de corte não representaram mudanças positivas no perfil de ácidos graxos saturados da carne de peito. A principal evidencia está relacionada com aumentos nas concentrações de pentadecanóico e araquídico, ácidos graxos saturados associados a menor risco de diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e coronárias (Calder, 2015).

Verificou-se na Tabela 22, que os níveis de suplementação de sulfato de condroitina e Mn, não interferiram nas concentrações de C12:0, C17:0, C18:0, C21:0 / CLA cis 11 trans 13, C22:0, C23:0 e C24:0. De igual forma, os níveis dos fatores não alteraram as porcentagens do total de AGS em carne de peito de frangos de corte.

Tabela 22 – Composição de ácidos graxos saturados (%) da carne de peito de frangos

Ácido graxo	Sulfato de condroitina (SC: %)				Manganês (Mn: mg/kg)			P-Valor		
	0,00	0,06	0,12	0,18	0	40	80	S	Mn	SC x Mn
C9:0 - Nonanóico	0,006c	0,009ab	0,011a	0,007bc	0,008	0,008	0,009	0,002	0,884	0,232
C10:0 - Cáprico	0,011ab	0,012ab	0,016a	0,007b	0,010	0,012	0,013	0,022	0,767	0,826
C12:0 - Láurico	0,027	0,027	0,031	0,027	0,027	0,029	0,028	0,517	0,522	0,569
C14:0 - Mirístico	0,358b	0,343b	0,344b	0,396a	0,370	0,352	0,359	0,009	0,456	0,329
C15:0 - Pentadecanóico	0,051	0,055	0,054	0,055	0,054ab	0,050b	0,056a	0,518	0,035	0,997
C16:0 - Palmítico	20,730a	20,129b	20,306b	20,771a	20,384	20,472	20,597	0,006	0,513	0,477
C17:0 - Heptadecanóico	0,092	0,099	0,098	0,102	0,103	0,091	0,099	0,499	0,097	0,948
C18:0 - Estearico	7,903	7,863	8,287	7,723	7,818	8,034	7,980	0,438	0,746	0,730
C20:0 - Araquídico	0,207	0,219	0,209	0,231	0,214ab	0,204b	0,231a	0,208	0,041	0,934
C21:0 / CLA cis 11 trans 13	0,017	0,017	0,020	0,020	0,017	0,018	0,019	0,793	0,742	0,200
C22:0 - Behênico	0,787	0,747	0,805	0,727	0,773	0,765	0,761	0,859	0,886	0,680
C23:0 - Tricosanóico	0,026	0,022	0,022	0,022	0,026	0,023	0,020	0,926	0,251	0,863
C24:0 - Lignocérico	0,131	0,114	0,149	0,115	0,129	0,137	0,115	0,384	0,152	0,530
AGS	30,184	29,747	30,277	30,184	29,999	30,183	30,235	0,558	0,823	0,918

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas em cada linha e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Em relação aos ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) houve interação entre os fatores SC e Mn para o isômero do ácido vacênico (C18:1 trans 10) e C24:1 cis 15 (Tabela 23), com desdobramento apresentado na Tabela 24. Os resultados das concentrações dos principais representantes do grupo dos ácidos monoinsaturados (oléico e palmitoléico) não foram influenciados (P>0,05) pelos níveis de inclusão de SC e Mn na dieta de frangos de corte. No entanto, para os ácidos graxos miristoléico, isômero do ácido vacênico (C18:1 trans 12) e erúico (C22:1 n9) que são sintetizados endogenamente e que estão presentes em concentrações menores foi verificado efeito (P<0,05) dos níveis de sulfato de condroitina.

O nível de 0,12% de SC aumentou as concentrações de C18:1 trans 12 e C22:1 n9, assim como diminuiu as porcentagens de C14:1 cis9, em carne de peito de frangos de corte, em comparação aos resultados de AGMI de carne de peito, produto das dietas sem inclusão de SC.

Os resultados das amostras de carne das aves alimentadas com 0,18% de SC (Tabela 23) foram semelhantes aos resultados das carnes de peito das dietas sem inclusão de SC, exceto no C18:1 trans 12, em que o nível de 0,18% de SC foi maior que a dieta sem SC. Contudo, nota-se que as principais diferenças nas carnes das aves alimentadas com 0,18% de SC foram em comparação com 0,12% de SC, sendo maior porcentagens para C14:1 cis9 e no somatório de AGMI. Além disso, o nível de 0,18% de SC resultou em carnes com menores concentrações C22:1 n9 e similar concentração de C18:1 trans 12, que as carnes de aves que receberam dietas de 0,12% de SC.

Ao observar os resultados de 0,12% de SC, torna-se um aspecto interessante enfatizar que já que o aumento de C22:1 n9 pode melhorar a função cognitiva, interagir com os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs), inibir enzimas inflamatórias como a elastase e a trombina relacionadas com doenças neurodegenerativas (KUMAR E SHARMA, 2020; ALTINOZ E OZPINAR, 2019). No entanto, as concentrações elevadas do ácido erúico das carnes de frango do nível de 0,12% de SC quando relacionadas com os resultados das carnes das aves alimentadas com 0,00% ou com 0,18% de SC, requerem cuidado porque conforme, Kumar e Sharma (2020) o ácido erúico está sendo relacionado com causas de lipidose miocárdica, lesões cardíacas e esteatose hepática quando o ácido foi testado em alimentação animal. Segundo Altinoz e Ozpinar (2019) baixas doses de ácido erúico por si só não são cardioprotetoras e podem fornecer condições protetoras para o cérebro.

De igual forma, o aumento na concentração de C18:1 trans 12 evidenciada no nível de 0,12% e 0,18% de SC, torna-se importante uma vez que, Conforme Wang et al. (2008) e Turpeinen et al. (2002) o ácido vacênico atua como um precursor da síntese endógena ácido linoleico conjugado (CLA), por meio da ação da enzima Δ^9 dessaturase em humanos e animais. O CLA é um grupo de ácidos graxos polinsaturados (PUFA) que fornece benefícios à saúde humana como na redução da gordura visceral e dos lipídios aterogênicos, assim pode proteger contra vários tipos de câncer e ter efeitos benéficos no metabolismo ósseo (BHATTACHARYA et al., 2006).

O ácido miristoléico, mesmo presente em pequenas quantidades na carne de frango, quando foi verificada a sua concentração na carne das aves alimentadas com o nível de 0,12% de SC, obteve-se uma diminuição das concentrações, quando relacionado com os níveis de ácido na carne, produto das dietas sem e com o suplementação nível de 0,18% de SC. Ressalta-se que a diminuição deste ácido na carne de frango pode refletir em perda de qualidade, visto

que o ácido pertence ao grupo de isômeros cis-AGMI, relacionados com efeito favorável no perfil de lipoproteínas séricas e diminuição de doenças cardiovasculares, quando a presença deles aumenta na dieta (JORIS E MENSINK, 2016).

Os resultados anteriores indicam que incluir SC nas dietas de frangos de corte pode interagir com a matriz dos AGMI, aumentando a qualidade da carne, tendo em vista que os AGMI promovem um perfil lipídico desejável no sangue, controlam a pressão arterial, modulam favoravelmente a sensibilidade à insulina e o controle glicêmico (GILLINGHAM et al., 2011). De igual forma, uma razão para recomendações específicas de AGMI pode ser seu benefício potencial na prevenção primária e secundária de doenças cardiovasculares, redução do colesterol total, LDL e triacilgliceróis (SCHWINGSHACKL E HOFFMANN, 2014),

Tabela 23 – Composição de ácidos graxos monoinsaturados (%) da carne de peito de frangos

Ácido graxo	Sulfato de condroitina (SC: %)				Manganês (Mn: mg/kg)			P-Valor		
	0,00	0,06	0,12	0,18	0	40	80	S	Mn	SC x Mn
C14:1 cis9 – Miristoléico	0,076a	0,068ab	0,062b	0,080a	0,076	0,066	0,073	0,029	0,209	0,772
C16:1 cis 7	0,244	0,242	0,230	0,242	0,242	0,236	0,240	0,376	0,845	0,840
C16:1 cis 9 – Palmitoléico	2,889	2,650	2,475	2,895	2,826	2,711	2,645	0,086	0,541	0,929
C17:1 cis 11 – Heptadecenóico	0,401	0,423	0,475	0,383	0,413	0,422	0,426	0,441	0,878	0,662
C18:1 trans 9 – Elaídico	0,024	0,027	0,026	0,025	0,025	0,028	0,023	0,948	0,206	0,192
C18:1 trans 10 - Vacênico	0,050	0,054	0,043	0,045	0,049	0,049	0,046	0,230	0,805	0,007
C18:1 trans 11 - Vacênico	0,033	0,032	0,040	0,030	0,029b	0,028b	0,043a	0,208	0,006	0,972
C18:1 trans 12 - Vacênico	0,012b	0,013ab	0,021a	0,019a	0,015	0,015	0,020	0,034	0,614	0,097
C18:1 n9 cis - Oléico	27,106	26,597	25,624	27,053	26,559	26,598	26,628	0,260	0,977	0,817
C18:1 cis 10 trans 15	3,476	3,323	3,349	3,399	3,473	3,325	3,363	0,294	0,116	0,809
C22:1 n9 - Erúico	0,037b	0,039ab	0,049a	0,034b	0,039	0,042	0,038	0,008	0,598	0,783
C24:1 cis 15 – Nervônico	0,018	0,034	0,020	0,019	0,019	0,020	0,029	0,959	0,927	0,034
AGMI	35,879ab	34,656ab	33,488b	36,173a	35,308	34,770	35,069	0,018	0,870	0,575

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas em cada linha e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Aves alimentadas com 80 mg/kg de Mn proporcionaram carnes de peitos com maiores concentrações de C18:1 trans 11, em comparação aos demais níveis de Mn adicionados nas dietas para frangos de corte (Tabela 23). Estes resultados indicam que o Mn interagiu com a matriz do ácido vacênico, fornecendo maior qualidade na carne de peito de frango, visto que o

vacênico é um importante precursor no metabolismo intermediário do ácido linoléico conjugado (CLA: anticancerígeno), responsável por 80–90% do CLA da gordura intramuscular da carne (DALEY et al., 2010).

Na Tabela 24, apresenta-se o efeito ($P < 0,05$) da interação entre os níveis dos fatores SC e Mn para C18:1 trans 10 e C24:1 cis 15. Verificou-se que as dietas sem inclusão de SC e 40 mg/kg de Mn, aumentaram as concentrações de C18:1 trans 10 em carne de peito de frango, quando relacionado aos resultados dos níveis de 0 e 80 mg/kg de Mn. No entanto, a dieta de 0,00% de SC e suas relações com os níveis de Mn não influenciaram o C24:1 cis 15.

A interação entre SC e os diferentes níveis de Mn apresentam a relação de 0,06% de SC com 80 mg/kg de Mn, como aquela que atingiu as maiores porcentagens de o ácido C18:1 trans 10 e C24:1 cis 15 que os níveis de 0,00% e 40 mg/kg de Mn.

O nível de 0,18% de SC, em combinação com 80 mg/kg de Mn apresentou baixas porcentagens de C18:1 trans 10, em comparação as relações de 0,18% de SC com os demais níveis de inclusão de Mn. Contudo, o nível de 0,18% de SC, mesmo que associado com os três níveis de manganês testados neste experimento, não interagiu com as concentrações de C24:1 cis 15 na carne de peito de frangos de corte.

Além disso, quando verificada a interação do nível de 0,12% de SC e os níveis de Mn, não foi observada diferença nas concentrações de C18:1 trans 10 e C24:1 cis 15.

Tabela 24 – Interação das médias do ácido graxo (%) C18:1 trans 10 e Nervônico (C24:1 cis 15) em peitos de frangos

Ácido graxo	Mn (mg/kg)	Sulfato de condroitina (SC: %)				Média	P-Valor		
		0,00	0,06	0,12	0,18		S	Mn	SC x Mn
C18:1 trans 10	0	0,051Aab	0,052Ab	0,046Aa	0,046Aa	0,049	0,230	0,805	0,007
	40	0,059Aa	0,043ABb	0,036Ba	0,056Aa	0,049			
	80	0,039Bb	0,066Aa	0,047Ba	0,032Bb	0,046			
	Média	0,050	0,054	0,043	0,045				
C24:1 cis 15 - Nervônico	0	0,016Aa	0,017Ab	0,026Aa	0,017Aa	0,019	0,959	0,927	0,034
	40	0,026Aa	0,015Ab	0,018Aa	0,022Aa	0,020			
	80	0,013Ba	0,070Aa	0,017Ba	0,017Ba	0,029			
	Média	0,018	0,034	0,020	0,019				

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si nas colunas, maiúsculas não diferem entre si nas linhas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Portanto, sugere-se que não adicionar Mn nas dietas e acrescentar níveis crescentes de SC não comprometem as concentrações de C18:1 trans 10 e C24:1 cis 15 na carne de peito de frango.

Também, o uso de 40 mg/kg de Mn diminuiu as concentrações do ácido graxo C18:1 trans 10, quando combinado com o nível de 0,12% de SC, do que o resultado da dieta de 40 mg/kg de Mn associado com 0,00% e com 0,18% de SC. Em relação ao ácido Nervônico, a combinação entre 40 mg/kg de Mn e os quatro níveis de SC, não apresentaram mudanças nas concentrações deste ácido graxo nos peitos de frangos de corte.

De maneira geral, foi verificado que aves alimentadas com dietas de 0,06% de SC e 80 mg/kg de Mn, assim como as dietas sem inclusão de SC e 40 mg/kg de Mn, aumentaram as concentrações de C18:1 trans 10. Conforme Li et al. (2018), Jahreis e Dawczynski (2020) o C18:1 trans 10, devido à sua estrutura molecular, não é substrato da $\Delta 9$ -dessaturase, enzima relacionada com o metabolismo de ácido octadecaenóico e aumento de CLA na carne, este último ácido relacionado com efeitos anticarcinogênicos e antiaterogênicos em animais experimentais ou *in vitro*. Portanto, as maiores porcentagens de C18:1 trans 10 e sua dificuldade de ser metabolizado, podem refletir em piora da qualidade da carne, pois as gorduras trans podem desempenhar importante efeito deletério na saúde humana.

Ao considerar o comportamento e propriedades do ácido C18:1 trans 10, comentadas anteriormente, destaca-se as dietas de 40 mg/kg de Mn combinado com o nível de 0,12% de SC e a dieta do nível de 0,18% de SC usado em combinação com 80 mg/kg de Mn porque apresentaram carnes de peito de frangos com baixas porcentagens de C18:1 trans 10, tornando-se carnes mais desejáveis, desde o ponto de vista de menor concentração de gordura *trans* e a dificuldade de metabolização deste ácido, como foi comentado anteriormente.

Como evidenciado na Tabela 24, as aves alimentadas com dietas de 0,06% de SC e 80 mg/kg de Mn aumentaram as concentrações C24:1 cis 15 na carne de peito de frangos de corte, independentemente dos outros níveis de suplementação de SC e Mn. Este resultado sugere que a suplementação de 0,06% de SC e 80 mg/kg de Mn na dieta de frangos de corte resulta em carnes mais desejáveis, em relação ao Nervônico, visto que este ácido é importante na biossíntese da mielina no cérebro, pode ser um indicador da maturação do cérebro (MARTINEZ, 1992). Conforme Li et al. (2019) o ácido Nervônico tem funções biológicas

significativas, como promover o desenvolvimento do cérebro, melhorar a memória e retardar o envelhecimento do cérebro.

Tabela 25, verificou-se efeito ($P < 0,05$) dos níveis de SC sobre o perfil de ácidos graxos polinsaturados (AGPI) em carne de peito de frangos de corte, em que carne das aves alimentadas com a dieta de 0,12% de SC apresentou maiores concentrações de C20:3 n3, C20:4 n6 e C20:5 n3, quando comparada as carnes de peito de frangos alimentados com 0,18% de SC. A suplementação de 0,12% de SC é interessante porque atingiu os maiores valores e que reflete em aumento na qualidade de carne e saúde humana, visto que o C20:3 n3 pode ser usado como um potencial agente terapêutico que protege a pele contra a inflamação induzida por irradiação ultravioleta (UV) aguda na pele humana e o fotoenvelhecimento-perda de água transepidermica (JIN et al., 2010). A presença de maiores níveis de C20:4 n6 aumentam a proteção, fluidez e flexibilidade da membrana celular biológica, propriedades necessárias ao funcionamento de todas as células, especialmente no sistema nervoso, especialmente do cérebro e das funções cognitivas, do músculo esquelético e sistema imunológico (TALLIMA et al., 2017). Por fim, maiores concentrações de ácido eicosapentaenóico (EPA), têm sido recomendadas para o tratamento de pacientes com doenças crônicas de ampla gama, incluindo doença cardíaca coronária, artrite reumatóide, demência e depressão (RUSSELL E BÜRGIN-MAUNDER, 2012).

Da mesma forma, as dietas com 0,12% e 0,18% de sulfato de condroitina aumentaram as concentrações de C18:2 Trans 10 Cis 12, na carne de peito do que a dieta sem inclusão de SC. Conforme Virsangbhai et al. (2020), o CLA refere-se a uma mistura de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico (C18: 2) e o seu isômero de CLA na forma trans 10 cis 12 tem sido relatado como um dos ácidos que confere vários benefícios à saúde, como prevenção do espessamento da artéria, proteção de doenças cardíacas, prevenção do câncer e modulação do sistema imunológico. Portanto, os aumentos deste ácido com a presença de SC e sua diferença com o tratamento controle determinam a importância da suplementação e melhora da composição da gordura na carne dos frangos de corte.

Para a concentração de eicosatrienóico (C20:3 n9), verificou-se que as dietas com 0,12% de SC aumentaram as porcentagens na carne de peito de frango em relação àquelas sem inclusão ou com 0,18% de SC. Segundo Eynard et al. (1998) níveis elevados deste ácido é anormalmente associado com a deficiência de ácidos graxos essenciais (exemplo: ácido linoléico, C18:2 n6 e alpha-linoléico, 18:3 n3), uma condição associada a alterações na proliferação e diferenciação

celular. No entanto, estudos em modelos animais sugeriram que este ácido graxo pode inibir a síntese de mediadores inflamatórios como o leucotrieno B4 (LTB4) um produto da via metabólica da 5-lipoxigenase responsável pela migração de neutrófilos para um foco inflamatório na fase aguda da inflamação dos tecidos (JAMES et al., 1993; MUHLHAUSLER, 2018). Os benefícios antiinflamatórios são semelhantes aos observados com estratégias de alimentação com deficiência de ácidos graxos essenciais nas dietas ou óleo de peixe dietético (que contém ácido eicosapentaenóico-EPA).

As dietas sem inclusão ou com 0,12% de SC resultaram em aumento no C18:2 Trans 10 cis 15 / trans 11 cis 15, em comparação àquela de 0,06% de SC. Este resultado indica que, conforme o nível de inclusão de SC pode ter uma mudança nas concentrações da classe de isômeros geométricos e posicionais do ácidos linoléicos conjugados e o isômero C18:2 Trans 10 cis 15 / trans 11 cis 15, mesmo não sendo a forma mais predominante e biologicamente ativa, sua condição de CLA pode fornecer benefícios à saúde, como prevenção do espessamento da artéria, proteção de doenças cardíacas, prevenção do câncer e modulação do sistema imunológico (VIRSANGBHAI et al., 2020). No entanto, as dietas sem inclusão ou com 0,12% de SC diminuíram as concentrações do linoléico (C18:2 n6 cis) na carne de peito de frangos de corte em comparação à dieta de 0,18% de SC. Apesar dos menores valores de ácido linoléico nos peitos das aves sem inclusão ou com 0,12% de SC, as concentrações foram altas para evitar deficiências no perfil de ácidos graxos, isto é, por causa de ingredientes como o óleo de soja usado na formulação das dietas deste experimento, já que o ácido linoléico compreende 50% - 55% dos ácidos graxos no óleo (CALDER, 2015). Ainda, conforme o autor, uma ingestão bastante baixa de ácido linoléico (1% da energia) é necessária para prevenir deficiência de ácidos graxos, e a maioria das dietas para humanos fornecem muito mais do que isso. Neste sentido, é possível afirmar que as amostras de carne de peito de todos os tratamentos forneceram níveis suficientes do ácido linoléico, que podem ser associados com benefícios como proteção da integridade da pele e prevenção na perda transdérmica de água, redução das concentrações de colesterol no sangue e colesterol LDL, reduz o risco de hipertensão e aumentar a sensibilidade à insulina (CALDER, 2015, DEVERS E BROWN, 2020).

Na análise do total de AGPI, foi verificado aumento na concentração de ácidos graxos, nos peitos de frangos de corte, alimentados com os níveis intermediários de sulfato de condroitina (0,06 e 0,12%), quando comparado com os valores atingidos pela dieta sem SC. Segundo Tapiero et al. (2002) e Calder (2015), maiores concentrações de ácidos graxos

polinsaturados fornecem maior desenvolvimento e função de espermatozoides, maturação ideal da função visual, função cerebral, além de estimular a prevenção de doenças cardiovasculares, doenças metabólicas, inflamatórias e auxiliar o tratamento contra câncer.

Tabela 25 – Composição de ácidos graxos polinsaturados (%) da carne de peito de frangos

Ácido graxo	Sulfato de condroitina (SC: %)				Manganês (Mn: mg/kg)			P-Valor		
	0,00	0,06	0,12	0,18	0	40	80	S	Mn	SC x Mn
C18:2 n6 trans - Linolelaídico	0,015	0,017	0,019	0,015	0,017	0,014	0,018	0,733	0,235	0,011
C18:2 Trans 10 Cis 12 - Octadecadienóico	0,028b	0,034ab	0,038a	0,040a	0,037	0,034	0,035	0,020	0,545	0,586
C18:2 Trans 10 cis 15 / trans 11 cis 15	0,029a	0,023b	0,030a	0,026ab	0,025	0,026	0,030	0,036	0,126	0,119
C18:2 n6 cis - Linoléico	23,343b	24,2674ab	23,2381b	24,581a	23,940	23,566	24,067	0,056	0,598	0,173
C18:3 n6 - γ-linolênico	0,041	0,043	0,048	0,047	0,045	0,041	0,048	0,306	0,153	0,895
C18:3 n3 - α-linolênico	0,212	0,212	0,191	0,212	0,213	0,206	0,201	0,189	0,360	0,855
C20:2 n6 Eicosadienóico cis 11,14	0,024	0,021	0,023	0,023	0,022	0,023	0,024	0,737	0,271	0,620
C20:3 n9 - Eicosatrienóico	0,488b	0,523ab	0,603a	0,488b	0,524	0,549	0,503	0,041	0,442	0,711
C20:3 n6 - Eicosatrienóico	0,019	0,022	0,059	0,023	0,022	0,023	0,047	0,185	0,906	0,656
C20:3 n3 - Eicosatrienóico	3,990ab	4,153ab	4,905a	3,710b	4,098	4,424	4,047	0,049	0,488	0,486
C20:4 n6 - Araquidônico	0,011ab	0,014ab	0,015a	0,009b	0,012	0,013	0,012	0,033	0,975	0,821
C20:5 n3 - Eicosapentaenóico - EPA	0,045ab	0,063ab	0,070a	0,042b	0,049	0,049	0,066	0,050	0,263	0,882
C22:2 n6 - Ácido Docosadienóico	0,009	0,012	0,012	0,010	0,011	0,011	0,010	0,418	0,482	0,142
C22:4 n6 - Docosatetraenóico	1,019	1,112	1,247	1,066	1,110	1,182	1,041	0,405	0,549	0,792
C22:5 n3 - Docosapentaenóico	0,579	0,737	0,707	0,535	0,731a	0,693a	0,493b	0,235	0,029	0,944
C22:6 n3 - Docosahexaenóico - DHA	0,405	0,351	0,342	0,281	0,286	0,327	0,421	0,501	0,706	0,280
AGPI	30,473c	31,823a	31,679ab	30,718bc	31,292	31,203	31,026	0,026	0,843	0,614

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas em cada linha e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

As suplementações de Mn na dieta de frangos de corte influenciaram (P<0,05) a concentração de docosapentaenóico (C22:5 n3) (Tabela 25). Pode-se verificar que a dieta sem inclusão ou com adição de 40 mg/kg de Mn apresentaram maiores concentrações de docosapentaenóico na carne de peito de frangos de corte, que a dieta de 80 mg/kg de Mn. Sugere-se, portanto, que, acrescentar níveis de Mn acima das recomendações podem afetar as concentrações de docosapentaenóico nas carnes de peito de frango de corte acarretando os prejuízos relacionadas as funções do ácido como influenciar em processos inflamatórios, a

função imunológica, a coagulação do sangue, a vasoconstrição e a renovação óssea, entre outros processos como efeitos cardioprotetores, assim como prevenção e tratamento de cânceres humanos (TAPIERO et al., 2002; CALDER, 2015).

Evidenciou-se interação entre os fatores SC e Mn para ácido linolelaídico (C18:2 n6 trans), com desdobramento na Tabela 26.

Tabela 26 – Interação das médias do ácido graxo (%) linolelaídico (C18:2 n6 trans) em peitos de frangos.

Ácido graxo	Mn (mg/kg)	Sulfato de condroitina (SC:%)				Média	P-Valor		
		0,00	0,06	0,12	0,18		S	Mn	SC x Mn
C18:2 n6 trans - Linolelaídico	0	0,011Ba	0,014ABab	0,026Aa	0,016ABa	0,017			
	40	0,014Aa	0,011Ab	0,019Aa	0,015Aa	0,014	0,733	0,235	0,011
	80	0,019Aa	0,026Aa	0,013Aa	0,014Aa	0,018			
	Média	0,015	0,017	0,019	0,015				

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si nas colunas, maiúsculas não diferem entre si nas linhas pelo teste de Tukey (P<0,05).

O desdobramento da interação da Tabela 26, apresenta como efeitos principais, os aumentos na concentração de C18:2 n6 trans, na carne de frangos de corte quando usada a dieta de 0,06% de SC, combinada com 80 mg/kg Mn, em comparação as dietas de 0,06% de SC e 40 mg/kg Mn.

Para os níveis de 0,0%; 0,12% e 0,18% de SC e suas combinações com os diferentes níveis de Mn não foram verificadas diferenças (P>0,05) em (C18:2 n6 trans). Portanto, a não adição de Mn na dieta e o acréscimo de 0,12 % de SC aumentou a concentração de C18:2 n6 trans na carne de peito de frangos de corte, quando comparado aos resultados da dieta de 0 mg/kg Mn e sem adição de SC. As combinações entre 40 ou 80 mg/kg de Mn com os diferentes níveis de SC (Tabela 26) não apresentaram mudanças nas porcentagens de C18:2 n6 trans.

De maneira geral, as maiores concentrações de C18:2 n6 trans na carne de peito foram apresentadas pelas dietas de 0,06% de SC combinada com 80 mg/kg Mn e pela dieta de 0 mg/kg Mn com 0,12 % de SC. Destaca-se que o aumento de ac. linolelaídico, em carne, pode conduzir à inibição dos processos de conversão do ácido linoléico para ácido araquidônico, sendo de grande preocupação porque afeta adversamente o metabolismo fisiologicamente importante dos eicosanoides, resultando em aumento de doenças inflamatórias (STACHOWSKA et al., 2004). De igual maneira este ácido participa na formação da placa de ateroma devido a sua condição

de isômero trans, sendo, portanto, aumentados os riscos com doenças cardiovasculares (STACHOWSKA et al., 2004).

Na Tabela 27, verificou-se efeito dos níveis de SC sobre a relação AGPI/AGS em que as maiores taxas foram relacionadas às dietas de 0,06 de SC, quando comparada com 0,18% de SC. Destaca-se que as concentrações baixas da AGPI/AGS apresentadas pelos peitos das dietas sem inclusão e com 0,18% de SC determinam maiores riscos para doenças crônicas, visto que estão relacionadas com aumento no teor de AGS.

Tabela 27 – Índices de saúde e relação entre ácidos graxos da carne de peito de frangos

Ácido graxo	Sulfato de condroitina (SC: %)				Manganês (Mn: mg/kg)			P-Valor		
	0,00	0,06	0,12	0,18	0	40	80	S	Mn	SC x Mn
AG NAO ID	0,378	0,386	0,368	0,361	0,368	0,356	0,397	0,736	0,297	0,678
AGS	66,353	67,030	65,488	66,717	66,549	66,380	66,262	0,213	0,910	0,904
AGPI/AGS	1,007b	1,080a	1,037ab	1,027b	1,052	1,042	1,021	0,044	0,373	0,919
n6	24,420b	25,492a	24,408b	25,852a	25,243	24,815	25,071	0,010	0,615	0,088
n3	5,517ab	5,743a	6,386a	4,791b	5,286	5,965	5,577	0,041	0,295	0,598
n6/n3	4,979	4,994	4,402	5,743	5,070	4,605	5,413	0,231	0,512	0,598
n3/n6	0,230	0,239	0,262	0,204	0,227	0,243	0,231	0,231	0,512	0,598
Índice aterogênico	0,338	0,326	0,337	0,334	0,333	0,332	0,337	0,122	0,583	0,891
Índice trombogênico	0,621ab	0,594b	0,596b	0,632a	0,609	0,604	0,619	0,019	0,452	0,624
Índice de saúde	2,999	3,107	3,012	2,989	3,045	3,040	2,994	0,083	0,455	0,925
Hipocolesterolêmico / Hipercolesterolêmico	2,455	2,546	2,422	2,468	2,489	2,475	2,454	0,214	0,793	0,836

AG NAO ID: Ácidos graxos não identificados; AGS: Ácidos graxos saturados; AGPI: Ácidos graxos polinsaturados; n6: Teor de ácidos ômega-6; n3: Teor de ácidos ômega-3.

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas em cada linha e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Verificou-se diminuição no índice trombogênico na carne de peitos de frangos alimentados com os níveis intermediários de sulfato de condroitina (0,06 e 0,12%), em comparação à dieta sem inclusão e com 0,18% de SC. De acordo com Paszczyk et al. (2020), o índice de trombogenicidade (TI) indica que existe uma tendência para a formação de coágulos nos vasos sanguíneos. Isso é definido como a relação entre os ácidos graxos pró-trombogênicos (saturados) e antitrombogênicos (AGMI, AGPI n-6 e AGPI n-3). Portanto, nos níveis de suplementação de 0,06 e 0,12% de SC verificou-se que o teor de ácidos graxos antitrombogênicos foi maior, daí a diminuição dos índices trombogênico, tornando o consumo da carne de frango mais desejável em oferecer menor risco para a saúde (infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral).

As aves alimentadas com os níveis de 0,06 e 0,18% de SC apresentaram carne de peito com maior teor no total de n6 do que as carnes de aves alimentadas com dietas de 0,12% e sem inclusão de SC. Segundo Simopoulos (2002), quantidades excessivas de ácidos graxos n-6 promovem a patogênese de muitas doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, câncer, obesidade, doenças autoimunes e doenças inflamatórias. Portanto, as menores concentrações do teor de ômega 6 nos peitos de frangos das dietas de 0,12% e sem inclusão de SC podem ser uma alternativa para diminuir a ingestão dietética de n-6, mitigando os efeitos negativos sobre à saúde humana.

Para o teor de n3, observou-se maiores aumentos nas carnes de aves alimentadas com dietas de 0,06 e 0,12% em comparação as aves alimentadas com o nível de 0,18% de SC. De acordo com Devers e Brown (2020), o índice n-3 é uma ferramenta usada para avaliar o risco de morte relacionado à doença arterial coronariana, além de permitir que os médicos estratifiquem os pacientes em termos de risco e tenham como alvo a terapia com óleos de peixe purificados ou aumento da ingestão de alimentos ricos em n-3. Da mesma forma, Simopoulos (2002) descreveu, que os níveis aumentados n-3 exercem efeitos supressores na prevenção doenças metabólicas, cardiovasculares e inflamatórias. Neste sentido, os níveis intermediários de SC (0,06 e 0,12%) ao apresentar peitos de frangos de corte com níveis altos de n-3, aumentaram as propriedades desejáveis na redução do risco de muitas das doenças crônicas.

É importante destacar o nível de suplementação de 0,12% de SC, visto que apresenta redução nos teores de n-6 e aumentou o n-3, fator importante para obter relações baixas de n-6/n-3 que exercem efeitos supressores para doenças crônicas. Outro aspecto interessante relacionado com o nível de 0,12% de SC é seu valor alto na concentração de n3 (6,39) que proporcionaram maiores características cardioprotetoras, ao considerar o descrito por Devers e Brown (2020) que as estimativas mostram que uma meta cardioprotetora é > 8% e o nível associado ao aumento do risco cardiovascular é <4%. De igual forma, o nível de 0,12% de SC apresentou alta taxa de AGPI/AGS, que representa maior presença de ácidos graxos polinsaturados, como foi confirmado nos maiores níveis de n-3, afirmando os efeitos benéficos para a prevenção e tratamento de doenças crônico-degenerativas não transmissíveis.

Um fator interessante da Tabela 27, que mesmo não apresentando diferenças estatísticas, independente dos tratamentos, todas as dietas apresentaram a taxa de n-6 / n-3, próximo a 4/1, que foi associada a uma redução de 70% na mortalidade devido a doenças cardiovasculares (De LORGERIL et al., 1994).

4. CONCLUSÕES

- O efeito dos níveis de inclusão de sulfato de condroitina e de manganês no desempenho é mais evidente até os 28 dias de idade das aves, proporcionando mudanças no desempenho e impactando em características produtivas de importância para a avicultura.

- Após os 28 dias de idade dos frangos, o uso de manganês e sulfato de condroitina limita o potencial produtivo, devidos às sutis mudanças no desempenho e piora na conversão alimentar.

- Os níveis de SC e Mn não melhoraram as características de carcaça e qualidade da carne de peito, assim como não interagiram com os atributos morfológicos do peito associados com miopatia. No entanto, os níveis de 0,18% de SC e 80 mg/kg de Mn podem ser melhor estudados devido a seus efeitos no rendimento de peito, asa e tamanho de estrias na miopatia “*white striping*”.

- A suplementação de frangos com SC e Mn aparentemente diminuiu o tamanho médio de estrias da miopatia do tipo “*white striping*”. As mudanças percebidas no tamanho de estrias requerem de estudos mais específicos para determinar a possível influência no desenvolvimento do tecido conjuntivo, permitindo menor estresse oxidativo e menor degeneração da fibra muscular.

- A inclusão de SC, principalmente o nível de 0,12%, assim como a inclusão de 40 mg/kg de Mn na dieta de frangos de corte, pode ser uma alternativa viável para melhorar a composição da gordura da carne de peito de frangos de corte e proporcionar redução no índice trombogênico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao laboratório de avicultura, ciência da carne (LCC) e bromatologia da FMVZ/USP pelo apoio em infraestrutura e procedimentos experimentais, assim como ao Laboratório de Fermentabilidade Ruminal (LFR) da FZEA/USP pelo apoio em infraestrutura. Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo nº 2018/09012-5).

REFERÊNCIAS

ABREU, P.G.; ABREU, V.M.N. Conforto térmico para aves. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2012. **Artigos avicultura Engormix. 2012.** Disponível em <<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/administracao/artigos/confortotermico-aves-t978/124-p0.htm>>. Acesso em: 05 de jul. 2020.

- ALTINOZ, M. A.; OZPINAR, A. PPAR- δ and erucic acid in multiple sclerosis and Alzheimer's Disease. Likely benefits in terms of immunity and metabolism, *International Immunopharmacology*, v. 69, p.245-256, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.01.057>.
- AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of meat, Champaign, Illinois: AMSA, 2016.
- BALDI, G. et al. Implications of White Striping and Spaghetti Meat abnormalities on meat quality and histological features in broilers. ***Animal***, v.12, n.1, p. 164–173, 2018.
- BANKS, W. J. Tecido muscular. In: *Histologia veterinária aplicada*. 2. ed. São Paulo: Manole LTDA, cap. 13, p. 215 – 236, 1992.
- BHATTACHARYA, A. et al. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease, ***The Journal of Nutritional Biochemistry***, v.17, n.12, p.789-810, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2006.02.009>.
- BOERBOOM, G. et al. Unraveling the cause of white striping in broilers using metabolomics. ***Poultry Science***, v. 9, n. 11, p. 3977–3986. 2018.
- BRESSAN, M.C.; E BERAQUET, N.J. Tratamentos de pré-resfriamento e resfriamento sobre a qualidade de carne de peito de frango. ***Ciência e Tecnologia de Alimentos***, Campinas, v. 24, n. 2, p. 230-235, 2004.
- CAI, K. et al. Meat quality traits and proteome profile of woody broiler breast (pectoralis major) meat. ***Poultry Science***, v. 97, n. 1, p. 337-346. 2018.
- CALDER, P. C. Functional Roles of Fatty Acids and Their Effects on Human Health, ***Journal of Parenteral and Enteral Nutrition***, v. 39, Supp. 1, p. 18–32, 2015. <https://doi.org/10.1177/0148607115595980>.
- CAMPO, G.M. et al. Antioxidant activity of chondroitin sulfate. ***Advances Pharmacology***, v. 53, p.417-431, 2006. Doi: 10.1016/S1054-3589(05)53020-5.
- CARVALHO, R.H. et al. Underlying connections between the redox system imbalance, protein oxidation and impaired quality traits in pale, soft and exudative (PSE) poultry meat. ***Food Chemistry***, v. 215, p. 129-137. 2017.
- COBB 500TM. Suplemento de nutrição e desempenho do frango de corte. Arkansas: cobb-vantress, 2015. Disponível em: < <https://www.cobb-vantress.com/pt/academy/product-guides>>. Acesso: 09 nov. 2018.
- COBB-VANTRESS. Manual de manejo de frangos de corte. Arkansas: cobb-vantress. 2014. Disponível em: < <https://www.cobb-vantress.com/pt/academy/management-guides>>. Acesso em: 09 nov. 2018.
- CROSS, H. R. et al. Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. ***Journal of Food Science, Hoboken***, v. 38, p. 998 – 1003, 1973.

- DALEY, C.A. et al. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. **Nutrition Journal**, v. 9, n. 10, p. 1-12, 2010. DOI: 10.1186/1475-2891-9-10.
- DE-LORGERIL, M. et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heartdisease. **Lancet**, v. 343, n. 8911, p.1454–1459, 1994.
- DE MATTEI, M. et al. High doses of glucosamine HCl have detrimental effects on bovine articular cartilage explants cultured in vitro. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 10, n. 10, p. 816-825. 2002.
- DEVERS, P. M.; BROWN, W. M. **Fatty Acid Profiling**, Editor(s): Joseph E. Pizzorno, Michael T. Murray, Textbook of Natural Medicine (5. Ed.), Churchill Livingstone, Cap. 13. Pages 127-133.e2, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-43044-9.00013-3>.
- EYNARD, A.R.; JIANG, W.G.; MANSEL, R.E. Eicosatrienoic acid (20:3 n-9) inhibits the expression of E-cadherin and desmoglein in human squamous cell carcinoma in vitro. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 59, n.6, p. 371-377, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0952-3278\(98\)90098-9](https://doi.org/10.1016/S0952-3278(98)90098-9)
- FAVERO, A. et al. Reproductive performance of Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid complexed sources. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 1, p. 80-91, 2013.
- FOLCH, J. et al. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biological Chemistry**, Bethesda, v. 226, n. 1, p. 497 – 509, 1957.
- FOROUHI, N.G. et al. Differences in the prospective association between individual plasma phospholipid saturated fatty acids and incident type 2 diabetes: the EPIC-InterAct case-cohort study. **Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 2, n. 10, p.810-818, 2014.
- GILLINGHAM L. G.; HARRIS-JANZ, S.; JONES, P. J. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. **Lipids**, v. 46 n. 3, p. 209-28, 2011. Doi: 10.1007/s11745-010-3524-y.
- GONÇALVES, G. E. et al. Effects of chondroitin sulfate and sodium hyaluronate on chondrocytes and extracellular matrix of articular cartilage in dogs with joint disease. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 93 – 102, 2008.
- GU, X.H.; HAO, Y.; WANG, X.L. Overexpression of heat shock protein 70 and its relationship to intestine under acute heat stress in broilers: 2. Intestinal oxidative stress. **Poultry Science**, v. 91, n. 4, p. 790-799, 2012.
- HONIKEL, K. O. The water binding of meat. **Fleischwirtsch**, Frankfurt, v.67, n.2, p.1098-1102, 1987.
- HUANG, X.; AHN, D.U. The Incidence of Muscle Abnormalities in Broiler Breast Meat – A Review. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, Seoul, v. 38, n. 5, p. 835-850, 2018.

JAHREIS, G.; DAWCZYNSKI, C. Trans and conjugated fatty acids in dairy products: Cause for concern?, In: Givens, D. I. (Eds.). **Milk and Dairy Foods**, Academic Press, Chapter 4, p. 87-120, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815603-2.00004-8>

JAMES, M. J. et al. Effect of dietary supplementation with n-9 eicosatrienoic acid on leukotriene B4 synthesis in rats: a novel approach to inhibition of eicosanoid synthesis. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 178, n. 6, p. 2261–2265, 1993. Doi: 10.1084/jem.178.6.2261.

JIN, X. J. et al. Prevention of UV-Induced Skin Damages by 11,14,17-Eicosatrienoic Acid in Hairless Mice In Vivo. **Journal of Korean Medical Science**, v. 25, n. 6, p.930-937, 2010. <https://doi.org/10.3346/jkms.2010.25.6.930>

JORIS, P.J.; MENSINK, R.P. Role of cis-Monounsaturated Fatty Acids in the Prevention of Coronary Heart Disease. **Current Atherosclerosis Reports**, v. 18, n. 38, p. 1-7, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11883-016-0597-y>

KALEA, A.Z.; Lamari, F.N.; Theocharis, A.D.; Schuschke, D.A.; Karamanos, N.K.; Klimis-Zacas, D.J. Dietary manganese affects the concentration, composition and sulfation pattern of heparan sulfate glycosaminoglycans in Sprague-Dawley rat aorta. **Biometals**, v. 19, n. 5, p. 535–546. 2006. Doi: 10.1007/s10534-005-5893-x.

KONIGSBERG, F. M. **Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas**. México: Editorial El Manual Moderno, 2008. 623 p.

KRALIK, G. et al. Quality indicators of broiler breast meat in relation to colour. **Animal Science Papers and Reports**, v. 32, n. 2, 173-178, 2014.

KRAMER, J. K. G. et al. 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**, Heidelberg, v. 32, p. 1219-1228, 1997.

KUMAR, J. B. S.; SHARMA, B. A review on neuropharmacological role of erucic acid: an omega-9 fatty acid from edible oils, **Nutritional Neuroscience**, 2020. DOI: 10.1080/1028415X.2020.1831262

KUTTAPPAN, V. A. et al. Effect of white striping on the histological and meat quality characteristics of broiler fillets. **Poultry Science**, v. 88, E-Suppl. 1, p. 136-137 (Abstr.). 2009.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat varying degrees of white striping. **Poultry Science**. Cary, v. 91, n.5, p.1240-1247, 2012.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Pathological changes associate with white striping in broiler breast muscles. **Poultry Science**. Cary, v. 92, n. 2, p. 331–338, 2013. Doi:10.3382/ps.2012-02646

KUTTAPPAN, V. A. et al. White striping and woody breast: Effect on raw broiler breast fillet quality. **Poultry Science**. Cary, v. 94, p.521. (Abstr.) 2016.

- LAUDER, R. A. Chondroitin sulphate: a complex molecule with potential impacts on a wide range of biological systems. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 17, n. 1, p.56-62, 2009.
- LESIÓW, T.; KIJOWSKI, J. Impact of pse and dfd meat on poultry processing – a review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 12, n. 2, p. 3–8. 2003.
- LI, K. et al. Uncommon Fatty Acids and Cardiometabolic Health. **Nutrients**, v. 10, n.1559, p.1-14, 2018. <https://doi.org/10.3390/nu10101559>
- LI, Q. et al. A mini review of nervonic acid: Source, production, and biological functions. **Food Chemistry**, v. 301, 1252863, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125286>
- LUCCA, J. W. et al. Miopatia White Striping em diferentes linhagens de frangos de corte e suas consequências sobre a composição e a qualidade da carne. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 71, n. 4, p. 1331-1338, 2019.
- MARTINEZ, M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. **Journal of Pediatrics**, v. 120, n. 4 part. 2, p. 129-138, 1992. DOI: 10.1016/S0022-3476(05)81247-8
- MARTINS, C. R. et al. Organic compound solubility. **Química Nova**, v.36, n. 8, p.1248-1255, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000800026>
- MEEK, K. I. et al. Quality and sensory characteristics of selected post rigor, early deboned broiler breast meat tenderized using hydrodynamic shock waves. **Poultry Science**, v. 79, n. 1, p. 126–136, 2000. Doi: 10.1093/ps/79.1.126.
- MENDES, A. A. et al. Efeitos da energia da dieta sobre desempenho, rendimento de carcaça e gordura abdominal de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n.6, p.2300-2307, 2004.
- MENSINK, R. P. et al. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **The American Journal Clinical Nutrition**. v.77, n. 5, p.1146-1155. 2003. Doi: 10.1093/ajcn/77.5.1146.
- MUDALAL, S. et al. Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. **Animal**, v. 9, n. 4, p. 728–734, 2015.
- MUHLHAUSLER, B.S. The Effect of Dietary Modification on Polyunsaturated Fatty Acid Biosynthesis and Metabolism. In: Burdge, G. C. (Eds.). **Polyunsaturated Fatty Acid Metabolism**, AOCS Press, Chapter 10, p.181-192, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811230-4.00010-7>.
- MUTRYN, M.F. et al. Characterization of a novel chicken muscle disorder through differential gene expression and pathway analysis using RNA-sequencing. **BMC Genomics**, London, v. 16, n. 399, p. 1-19. 2015.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed Porto Alegre: Artmed, 2014. 1298 p.

NOVELLO, D. et al. Avaliação bromatológica e perfil de ácidos graxos de carne de frangos de corte alimentados com ração contendo farinha de peixe ou aveia-branca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.9, p.1660-1668, 2008.

OWENS, C. M. Market trends and challenges associated with pro-cessing and product quality of poultry. In: XXX Curso de Especialización FEDNA. Madrid, 5 e 6 de Novembro de 2014.

PASZCZYK, B. et al. Fatty Acids Profile, Trans Isomers, and Lipid Quality Indices in Smoked and Unsmoked Cheeses and Cheese-Like Products. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 71, p. 1-17, 2020.
<https://doi.org/10.3390/ijerph17010071>

PETRACCI, M.; CAVANI, C. Muscle growth and poultry meat quality issues. **Nutrients**, v. 4, n.1, p. 1-12. 2012. Doi: 10.3390/nu4010001

PETRACCI, M. et al. Occurrence of White striping and its impact on breast meat quality in broiler chickens. **Poultry Science**, Cary, v. 92, n. 6, p.1670-1675, 2013.

PETRACCI, M. et al. Wooden-Breast, White Striping, and Spaghetti Meat: causes, consequences and consumer perception of emerging broiler meat abnormalities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Hoboken, v. 18, n. 2, p. 565-583, 2019.

QUEIROZ, M. L. V. et al. Guia pratica para utilização de tabelas de entalpia. Núcleo de Estudos em Ambiência Agrícola e Bem-estar Animal (NEAMBE). 2012. Disponível em:<http://www.neambe.ufc.br/index_noticia_id_12>. Acesso em: 09 nov. 2018.

RIISPOA- Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2017. 108 p.

ROSA, F.C. et al. Efeito de métodos de cocção sobre a composição química e colesterol em peito e coxa de frangos de corte. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 707-714, 2006. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000400017>

RODGERS, M.R. Effects of Oral Glucosamine and chondroitin sulfates supplementation on frequency of intraarticular therapy of the horse tarsus. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, Apopka, v. 4, n. 2, p. 155- 162. 2006.

RUSSELL, F.D.; BÜRGIN-MAUNDER, C.S. Distinguishing Health Benefits of Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids. **Marine Drugs**, v.10, n. 11, p. 2535-2559, 2012. <https://doi.org/10.3390/md10112535>

RUTZ, F. et al. Crescimento muscular e características da qualidade das carcaças de frangos: genética, nutrição e sanidade, qual o papel de cada um?. In: XVIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura e IX Brasil Sul Poultry Fair, 2017, Chapecó, SC, **Anais...** Concórdia, SC : Embrapa Suínos e Aves, 2017.

- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2. Ed. Jaboticabal: Funep, 2016. 262p.
- SANTOS, A.M. et al. Efeito de diferentes tempos de exposição ao calor e de linhagens sobre o rendimento de carcaça e a composição química de peito de frangos de corte, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.71, n.1, p.243-251, 2019.
- SAS Institute. SAS user's guide: statistics. Release 8.02. Cary, 2002.
- SCHWINGSHACKL, L.; HOFFMANN, G. Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies, **Lipids in Health and Disease**, v. 13, n.154, p. 1-15, 2014. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-154>
- SGAVIOLI, S. et al. Effect of the addition of glycosaminoglycans on bone and cartilaginous development of broiler chickens. **Poultry Science**, Cary, v.96, n. 11, p. 4017-4025, 2017.
- SHEUERMANN, G. N. Alteração na quantidade e qualidade da carne de aves através da manipulação das fibras musculares. São Paulo: Mundo Agro Editora Ltda, 2008. Disponível em: <<https://www.avisite.com.br/index.php?page=cet&subpage=trabalhostecnicos&id=69> > Acesso em: 02 Fev 2019.
- SIHVO, H.K. et al. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 3, p. 619-623, 2014. Doi: 10.1177/0300985813497488.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3.ed. 4ª reimpressão. Universidade Federal de Viçosa, 2009.
- SIMOPOULOS, A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 8, p.365–379, 2002. Doi: 10.1016/s0753-3322(02)00253-6
- SOARES, A.L. et al. Variation in the colour of Brazilian Broiler Breast Fillet. **Proceedings International Congress of Meat Science Technology**, Roma, v. 48, n. 2, p. 540-541, 2002.
- SOSNICKI, A.A. Focal myonecrosis effects in turkey muscle tissue. Reciprocal Meat Conference Proceedings, American Meat Science Association/National Live Stock and Meat Board, Chicago, v. 46, p.97-102, 1993.
- STACHOWSKA, E. et al. Dietary trans fatty acids and composition of human atheromatous plaques. **European Journal of Nutrition**, v. 43, n. 5, p. 313–318, 2004. <https://doi.org/10.1007/s00394-004-0479-x>
- TALLIMA, H.; EL-RIDI, R. Arachidonic acid: Physiological roles and potential health benefits - A review. **Journal of Advanced Research**, v. 24, n. 11, p. 33-41, 2017. Doi: 10.1016/j.jare.2017.11.004.

TAPIERO, H. et al. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies, **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 5, p. 215-222, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00193-2](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00193-2).

TIJARE, V. V. et al. Meat quality of broiler breast fillets with white striping and woody breast muscle myopathies. **Poultry Science**, Cary, v. 95, n. 9, p. 2167–2173, 2016. <https://doi.org/10.3382/ps/pew129>

TUFARELLI, V.; LAUDADIO, V. Manganese and its role in poultry nutrition: AN OVERVIEW, **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 5 n. 6, p.749.754, 2017.

TURPEINEN, A.M. et al. Bio-conversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. **The American Journal Clinical Nutrition**, v. 76, p. 504–510. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.3.504>

VELLEMAN S. G. Relationship of Skeletal Muscle Development and Growth to Breast Muscle Myopathies: A Review. **Avian diseases**, Jacksonville, v. 59, n. 4, p.525–531, 2015.

VIEIRA, N. T. et al. Efeitos dos glicosaminoglicanos e sulfato de condroitina A sobre a cartilagem articular normal e com doença articular degenerativa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p.1117-1127, 2010.

VIRSANGBHAI, C. K. et al. Potential Health Benefits of Conjugated Linoleic Acid: An Important Functional Dairy Ingredient, **European Journal of Nutrition & Food Safety**, v. 11, n. 4, p. 200-213, 2020. Doi: 10.9734/ejnfs/2019/v11i430162

WANG, Y. et al. Trans-11 Vaccenic Acid Dietary Supplementation Induces Hypolipidemic Effects in JCR:LA-cp Rats^{1,2}. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 138, n. 11, p. 2117-2122, 2008.

WOELFEL R.L. et al. The characterization and incidence of pale, soft, and exudative broiler meat in a commercial processing plant. **Poultry Science**, Cary, v. 81, n. 4, p. 579-584. 2002.

WOESSNER JUNIOR, J. F. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Miami, v. 93, n. 2, p. 440-447, 1961. Doi: 10.1016/0003-9861(61)90291-0.

YANG, P.; KLIMIS-TAVANTZIS, D. Effects of dietary manganese on arterial glycosaminoglycan metabolism in SpragueDawley rats. **Biological Trace Element Research**, v. 64, n 1-3, p. 275–280. 1998. Doi: 10.1007/BF02783343.

ZHANG, L.; BARBUT, S. Effects of regular and modified starches on cooked PSE, normal and DFD chicken breast meat batters. **Poultry Science**, Cary, v. 84, n. 5, p. 789-796. 2005.

CAPITULO 3
ARTIGO SOBRE QUALIDADE DE TIBIOTARSOS DE FRANGOS DE CORTE

Desenvolvimento ósseo de frangos de corte alimentados com sulfato de condroitina e manganês

Julian A. Muñoz¹, Taiane S. Martins², Tainara Aparecida J. Sant'Ana², Pollyana L. M. Garbossa², Laura. B. Ferreira¹, Caio. B. Barbalho¹, Monica. M. Silva¹, Silvana M. Baraldi-Artoni³, Cristiane Soares S. Araújo², Angélica Simone C. Pereira²

¹Departamento de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 13635-900, Brasil.

²Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 13635-900, Brasil.

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 14884-900, Brasil.

RESUMO

Os glicosaminoglicanos e o manganês são elementos importantes nos processos de formação óssea e sua participação nas dietas pode auxiliar no desenvolvimento estrutural de frangos de corte melhorados geneticamente que são suscetíveis a doenças músculoesqueléticas. Objetivou-se determinar o efeito da suplementação de sulfato de condroitina (SC) e manganês (Mn) sobre o desenvolvimento ósseo de frangos de corte. Um total de 1152 pintos machos Cobb foram alojados por 47 dias, de acordo com um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x3: quatro doses de SC (0,00; 0,06; 0,12 e 0,18 % p/p: kg de SC/ kg de ração) e três doses de Mn (0, 40 e 80 mg/kg), totalizando 12 tratamentos em 8 repetições, com 12 aves em cada. Retirou-se os tibiotarsos de uma ave por unidade experimental para determinar o conteúdo mineral ósseo (CMO), área óssea (AO), densidade mineral óssea (DMO), resistência óssea, densidade em massa orgânica (índice Seedor), análise de perfil mineral, atributos morfológicos e proliferação de condrócitos. A presença de SC e Mn nas dietas de frangos de corte não influenciaram ($P>0,10$) o CMO, DMO, teor de fosforo, manganês, peso absoluto, perímetro da diáfise e o número de condrócitos na cartilagem dos tibiotarsos. Observou-se efeito ($P<0,10$) dos níveis de SC, no índice Seedor, AO, pesos relativos, comprimentos dos tibiotarsos, perímetros da epífise proximal e distal. Com relação aos níveis de Mn, os tibiotarsos das aves alimentadas com dietas de 40 mg/kg de manganês apresentaram maiores ($P<0,10$) áreas e aumentos na porcentagem de cálcio dos ossos, quando comparado aos demais níveis de inclusão de Mn. Houve interação para cinzas e resistência óssea ($P<0,10$). Verificou-se que os

frangos de corte alimentados com a dietas de 0 mg/kg Mn e suas combinações com 0,0% e 0,06% de SC apresentaram maiores porcentagens de cinzas ósseas, que os frangos de corte alimentados com a dietas de 0 mg/kg Mn e os outros níveis de SC. Para a resistência óssea, a maior força de quebra foi apresentada nos tibiotarsos das aves alimentadas com 0,12% de SC com 0 mg/kg Mn, em comparação à força de quebra dos tibiotarsos das aves alimentadas com 0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn. Portanto, a suplementação de 0,12% de SC, bem como a inclusão de 40 mg / kg Mn na dieta de frangos de corte pode ser uma alternativa para melhorar a qualidade dos tibiotarsos principalmente nos atributos morfológicos, teor de cálcio e resistência à quebra.

Palavras Chave: Qualidade óssea, glicosaminoglicanos, mineral, aves, tibiotarsos.

1. INTRODUÇÃO

O contínuo progresso da indústria avícola é produto da contribuição científica e tecnológica de diferentes áreas como genética, nutrição, sanidade e ambiência. O melhoramento genético merece destaque, visto que proporcionou em torno de 80 a 85% na melhora no desempenho, permitindo abater animais na metade do tempo, com um peso corporal superior em quatro vezes o peso das aves no início da década de 1950 (RUTZ et al., 2017). No entanto, esse crescimento acelerado tem gerado efeitos colaterais adversos na estrutura óssea das aves, uma vez que os programas de melhoramento genético não incluíram melhorias no desenvolvimento ósseo (ALMEIDA-PAZ et al., 2010). De acordo com Almeida-Paz, (2008) a principal causa das doenças músculoesqueléticas em frangos de corte está associada ao tecido conjuntivo imaturo que não possui capacidade de aguentar o aumento de peso proporcionado pelo rápido crescimento.

Os distúrbios esqueléticos mais prevalentes em frangos de corte são discondroplasia tibial, condrodistrofias, degeneração femoral e as deformidades ósseas (ANGEL, 2007; VAN WYHE et al., 2012). A incidência clínica destas anormalidades é tipicamente inferior a 2 ou 3%, mas muitos frangos de corte são subclínicamente afetados, apresentando mudanças nos padrões de marcha e redução da capacidade de caminhada, resultando em efeitos prejudiciais para a conversão alimentar, crescimento e até mesmo condenações de carcaça (OVIEDO-RONDÓN et al., 2009), acarretando altas perdas financeiras que variam entre 10 a 40% do lucro bruto do produtor (ALMEIDA-PAZ, 2008a).

De acordo com Castrogiovanni et al. (2016), quando existe degeneração nos ossos, mudanças são detectadas na superfície da cartilagem e dependendo da gravidade da doença, há perda de proteoglicanos, tornando a superfície da cartilagem áspera sendo quebrada por fissuras e rachaduras. Os glicosaminoglicanos (GAGs), como componentes básicos da matriz extracelular e do líquido sinovial que estão distribuídos homoganeamente na superfície da cartilagem têm sido utilizados como compostos dietéticos para impedir o desenvolvimento de lesões estruturais ou reduzir a progressão de alterações patológicas na estrutura óssea das aves (SGAVIOLI et al., 2017; SANTOS et al., 2018; SANTOS et al. 2019), bovinos (DE MATTEI et al., 2002), equinos (HANSON et al. , 1997; FENTON et al., 2000, RODGERS, 2006) e cães (GONÇALVES et al., 2008; MELO et al., 2008; VIEIRA et al., 2010; ELEOTÉRIO et al., 2012), pois desempenham funções anti-inflamatória, com papel na manutenção do equilíbrio dos processos anabólicos e catabólicos, estimulam a síntese de proteoglicanos e colágeno, e são

capazes de aumentar a proliferação de condrócitos e a biossíntese da matriz óssea (ALTMAN et al., 1989; CLARK, 1991; CASTROGIOVANNI et al., 2016).

Dentre os glicosaminoglicanos utilizados, destacam-se os sulfatos de condroitina devido ao íon sulfato, que uma vez combinado com os grupos carboxilato dos resíduos de ácido urônico tem a habilidade de ligar e reter a água em ambas as matrizes de proteoglicano e colágeno, dando à cartilagem articular sua resiliência única à força de impacto (NELSON; COX, 2014; RODGERS, 2006). Além disso, o sulfato de condroitina estimula a síntese de outros glicosaminoglicanos e proteoglicanos por mecanismos extracelulares e intracelulares, assim como, em virtude de comprimentos de cadeia longos, inibe competitivamente as enzimas degradativas dos proteoglicanos e do colágeno tipo II na cartilagem e no fluido sinovial (HANSON et al., 1997; BASSLER; ROVATI; FRANCHIMONT, 1998).

A ação GAGs pode ser auxiliada pela presença de manganês (Mn), uma vez que este atua como cofator para a arginase, uma enzima transaminase que converte arginina em ornitina e uréia, dois produtos necessários para a síntese de colágeno, o principal componente dos ossos e cartilagem. Conforme Reece (2006), o manganês também é o cofator requerido para diversas enzimas como galactotransferase e glicosiltransferase necessárias para produção cartilagem e substância óssea básica (glicosaminoglicanos e glicoproteínas).

Neste contexto, considerando importância do sulfato de condroitina e do manganês na matriz extracelular dos tecidos conjuntivos, pretendeu-se determinar o efeito da suplementação de sulfato de condroitina (SC) e manganês (Mn) sobre o desenvolvimento ósseo de frangos de corte.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. *Local, animais e delineamento experimental.*

O experimento foi conduzido no laboratório de avicultura do Departamento de nutrição e produção animal VNP-FMVZ/USP, conforme as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/FZEA/USP (processo número 8401180618).

Utilizou-se 1152 pintos de corte machos Cobb de um dia de idade, alojados em 96 boxes de galpão de alvenaria durante 47 dias (sete semanas). A distribuição dos tratamentos foi em delineamento inteiramente ao acaso, arranjos em esquema fatorial (4x3), sendo os fatores: Quatro doses de sulfato de condroitina (0,00; 0,06; 0,12 e 0,18% p/p: kg de SC/ kg de ração) e

três doses de manganês (0, 40 e 80 mg/kg), totalizando 12 tratamentos com 8 repetições de 12 aves cada. As unidades experimentais foram equipadas com bebedouros automático tipo nipple, comedouros tubulares e lâmpadas infravermelho de aquecimento de 250 Watts. O programa de luz, práticas de sanidade (vacinação) e manejo adotadas foram de acordo com o manual de manejo de frangos de corte Cobb (2014). Para melhor controle do ambiente térmico no interior do galpão foi necessário termo-higrômetro digital, sendo as leituras máximas e mínimas tanto de temperatura (°C) quanto de Umidade relativa do ar (URA%) registradas no período da manhã e à tarde. O monitoramento das condições ambientais do aviário foi realizado pelo método de índice Entalpia de conforto (IEC) (QUEIROZ et al., 2012).

2.2. Dietas experimentais

As dietas experimentais foram elaboradas à base de milho e farelo de soja, o sulfato de condroitina sódica ($[C_{14}H_{19}NO_{14}SNa_2]_n$; 4-Sulfato de condroitina, origem de cartilagem bovina) foi incluído nas rações em substituição ao material inerte (areia) nas concentrações definidas para cada tratamento. O manganês (quelato de manganês de metionina hidroxí análoga) foi adicionado nas dietas para logo em seguida, misturar por segunda vez na Fábrica de Pré-Mistura, localizada na Seção Fábrica de Rações do laboratório de avicultura do departamento de nutrição e produção animal VNP-FMVZ/USP, Campus Fernando Costa – Pirassununga, para garantir a homogeneidade das dietas experimentais conforme especificações dos tratamentos (o manganês não foi considerado como parte da matriz nutricional das dietas).

O programa alimentar usado foi de cinco fases, conforme as recomendações do Suplemento de nutrição e desempenho do frango de corte (COBB 500™, 2015). A formulação das dietas foi realizada no programa Super Crac 5.7 Windows Versão Master® (copyright 1983-2010). As composições percentuais e cálculo das dietas encontram-se na Tabelas 4.

Tabela 4 - Composição percentual das dietas basais para cada fase experimental

Ingredientes (%)	Dietas			
	1 a 7 dias	8 a 21 dias	22 a 35 dias	36 a 47 dias
	Manganês ³	Manganês ³	Manganês ³	Manganês ³
	0-40-80 mg/kg	0-40-80 mg/kg	0-40-80 mg/kg	0-40-80 mg/kg
Milho (7,88%)	55,57	61,44	64,73	67,86
Farelo de soja (45%)	37,83	32,42	27,82	24,96
Fosfato Bicalcico	1,86	1,74	1,48	1,50
Óleo de Soja	2,54	2,27	3,78	3,58
Calcário Calcítico	0,78	0,75	0,72	0,73
Sal comum	0,37	0,37	0,44	0,34
L- Lisina HCL	0,20	0,23	0,14	0,16
DL- Metionina	0,33	0,31	0,22	0,20
L-Treonina	0,10	0,06	0,05	0,05
Premix ^{1,2}	0,20	0,20	0,40	0,40
Cloreto de Colina 70%	0,03	0,03	0,03	0,03
	0,00-0,06-0,12-	0,00-0,06-0,12-	0,00-0,06-0,12-	0,00-0,06-0,12-
Sulfato de condroitina ⁴	0,18	0,18	0,18	0,18
Inerte (areia) ⁵	0,18 a 0,00	0,18 a 0,00	0,18 a 0,00	0,18 a 0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
EM e Nutrientes Calculados (%)				
EM (Mcal/kg)	2,98	3,03	3,17	3,19
Proteína Bruta	22,00	20,00	19,00	18,00
Cálcio	0,90	0,84	0,76	0,76
Fósforo Disponível	0,45	0,42	0,38	0,38
Ácido Linoléico	2,65	2,58	3,41	3,35
Potássio	0,87	0,79	0,70	0,66
Sódio	0,16	0,16	0,20	0,16
Cloro	0,29	0,29	0,31	0,25
Lisina Dig.	1,22	1,12	0,95	0,90
Metionina+Cistina Dig.	0,91	0,85	0,74	0,70
Metionina Dig.	0,61	0,58	0,47	0,44
Treonina Dig.	0,83	0,73	0,65	0,61
Triptofano Dig.	0,25	0,22	0,19	0,18

¹Composição do Premix vitamínico e mineral por kg de ração para frangos de 1 a 21 dias de idade: Ácido fólico (mínimo) 250,00 mg/kg; Acido pantatênico (mínimo) 3.750,00 mg/kg; Cobre (mínimo) 25,00 g/kg; Colina (mínimo) 86,56 g/kg; Ferro (mínimo)12,50 g/kg; Iodo (mínimo)300,00 mg/kg; Manganês (mínimo)17,50 g/kg; Niacina (mínimo)10,00 g/kg; Selênio (mínimo) 50,00 mg/kg; Vitamina A (mínimo)2.000.000,00 UI/kg; Vitamina B1 (mínimo) 600,00 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo)3.500,00 mcg/kg; Vitamina B2 (mínimo)1.500,00 mg/kg; Vitamina B6 (mínimo)1.000,00 mg/kg; Vitamina D3 (mínimo)600.000,00 UI/kg; Vitamina E (mínimo)3.000,00 UI/kg; Vitamina K3 (mínimo)500,00 mg/kg; Zinco (mínimo)12,50 g/kg; Virginiamicina 3.750,00 mg/kg; Nicarbazina 31,25 g/kg.

²Composição do Premix vitamínico e mineral por kg de ração para frangos de a 21 a 42 dias de idade: Ácido fólico (mínimo) 150,00 mg/kg; Acido pantatênico (mínimo) 2.750,00 mg/kg; Cobre (mínimo) 25,00 g/kg; Colina (mínimo) 60,40 g/kg; Ferro (mínimo)12,50 g/kg; Iodo (mínimo)300,00 mg/kg; Manganês (mínimo)17,50 g/kg; Niacina (mínimo)7.500,00 mg/kg; Selênio (mínimo) 50,00 mg/kg; Vitamina A (mínimo)1.500.000,00 UI/kg; Vitamina B1 (mínimo) 350,00 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo)2.500,00 mcg/kg; Vitamina B2 (mínimo)1.000,00 mg/kg; Vitamina B6 (mínimo)500,00 mg/kg; Vitamina D3 (mínimo) 500.000,00 UI/kg; Vitamina E

(mínimo)2.500,00 UI/kg; Vitamina K3 (mínimo) 400,00 mg/kg; Zinco (mínimo)12,50 g/kg; Virginiamicina 4.125,00 mg/kg; Salinomocina 16,50 g/kg.

^{3, 4}Níveis de adição do sulfato de condroitina (SC) e manganês (Mn) de acordo com os tratamentos da Tabela 2: **T1:** 0,0 % de SC e 0 mg/kg de Mn; **T2:** 0,0 % de SC e 40 mg/kg de Mn; **T3:** 0,0 % de SC e 80 mg/kg de Mn; **T4:** 0,06 % de SC e 0 mg/kg de Mn; **T5:** 0,06 % de SC e 40 mg/kg de Mn; **T6:** 0,06 % de SC e 80 mg/kg de Mn; **T7:** 0,12 % de SC e 0 mg/kg de Mn; **T8:** 0,12 % de SC e 40 mg/kg de Mn; **T9:** 0,12 % de SC e 80 mg/kg de Mn; **T10:** 0,18 % de SC e 0 mg/kg de Mn; **T11:** 0,18 % de SC e 40 mg/kg de Mn; **T12:** 0,18% de SC e 80 mg/kg de Mn.

⁵Nível do inerte: Diminui na mesma relação que aumenta o sulfato de condroitina.

2.3. *Abate e coleta de amostras*

Aos 47 dias de idade, realizou-se o procedimento de abate no abatedouro escola da Universidade de São Paulo, Campus Fernando Costa – Pirassununga, de acordo com o regulamento de fiscalização industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA-MAPA, 2017). Foi selecionada uma ave por unidade experimental e pesadas individualmente (aves de maior peso estão relacionadas com maior incidência de distúrbios ósseos). Em seguida, as aves foram marcadas com anilha no pé e submetidas ao período de jejum de alimento de dez horas. Após este período, cada ave foi insensibilizada por eletronarcose, sangria por meio de corte transversal da veia jugular, escaldada, depenada, limpa, eviscerada (sem retirar a cabeça, os pés e o pescoço) e resfriadas em câmaras de resfriamento a 0° C, por 24 horas.

Posteriormente, as carcaças foram pesadas para retirar as coxas e sobrecoxas das aves. A coxa esquerda foi desossada e da epífise proximal do tibiotarso, aproximadamente 1 cm da cartilagem articular foi colhido para análise histológica. As coxas e sobrecoxas direitas foram embaladas em sacos de polietileno e armazenadas em freezer (-18 a -20°C), para posterior avaliação da qualidade dos tibiotarsos.

2.4. *Qualidade dos tibiotarsos*

As coxas e sobrecoxas direitas foram desossadas e os tibiotarsos retirados para determinar o índice Seedor, densidade óssea, resistência óssea, perfil mineral (níveis de cálcio fósforo e manganês), perfil morfométrico do osso e avaliação histológica da cartilagem articular, segundo os procedimentos a seguir:

2.4.1. *Análise morfométrica dos tibiotarsos*

A análise morfológica foi realizada conforme Santos et al. (2019). Nos tibiotarsos das coxas foram retirados os resíduos (carne e cartilagem) e pesados para obter o peso absoluto e o peso relativo (em relação à carcaça). Posteriormente, com auxílio de régua e barbante foram

realizadas as medidas de comprimento do tibiotarso, perímetro da epífise proximal, diáfise e a epífise distal. Os resultados das medidas por tratamento foram utilizados para verificar as possíveis diferenças no desenvolvimento ósseo entre as aves.

2.4.2. Índice Seedor

Para o cálculo do índice Seedor, considerou-se os pesos e comprimentos dos tibiotarsos da análise morfológica. O produto da divisão entre o peso do osso (mg) e seu comprimento (mm) é o índice Seedor que indicativo da densidade da massa orgânica do osso (SEEDOR et al., 1991).

$$\text{Índice de Seedor} = \text{Peso (mg)} / \text{Comprimento (mm)}$$

2.4.3. Densidade mineral óssea

A densidade mineral foi determinada de acordo Sgavioli et al. (2017) e Santos et al. (2019). Os tibiotarsos direitos limpos (sem tecido conjuntivo e sem resíduos de carne) foram radiografados na região proximal, distal e diafisária usando a absorciometria de raios X de dupla energia (Horizon Discovery DXA Hologic®, Massachusetts, EUA). As imagens obtidas foram analisadas no *software* para animais de pequeno porte, do próprio equipamento e os resultados envolveram o conteúdo mineral ósseo (g), área óssea (cm²) e densidade mineral óssea (g/cm²). Antes da digitalização das amostras, o dispositivo foi calibrado com programa fornecido pelo fabricante (Hologic®, Massachusetts, EUA).

2.4.4. Resistência óssea

Para a análise de resistência, os tibiotarsos foram submetidos à pré-secagem sob temperatura ambiente durante 24 horas. Após este período, realizou-se o ensaio de flexão dos ossos em três pontos (compressão axial), por meio da máquina universal de ensaios mecânicos (EMIC 23-5S, INSTRON/EMIC) acoplada ao programa computacional BlueHill® LE versão 3.72, conforme Sgavioli et al. (2017) e Santos et al. (2019). No equipamento (EMIC 23-5S, INSTRON/EMIC), os ossos foram colocados na mesma posição para permitir a calibração de acordo com o comprimento da diáfise. O comprimento definido foi de 6 cm para todas as amostras ósseas, pois essa distância foi suficiente para garantir a carga foi aplicada no ponto médio geométrico dos ossos. Os testes utilizaram uma força de pré-carga de 5 N e o tempo de

adaptação de 5 segundos. A velocidade de aplicação de carga foi de 5 mm min⁻¹, utilizando a célula de carga de 5 kN para determinar a força máxima de quebra (N).

2.4.5. Material mineral dos tibiotalarsos

Para determinar o material mineral ou cinzas ósseas, utilizou-se os procedimentos de Silva e Queiroz (2009), foram colhidos 2 gramas dos tibiotalarsos direitos pré-secados a temperatura ambiente por 24h, colocados em cadinhos e incinerados em mufla por 8 horas à temperatura de 600°C. Após este tempo, os cadinhos foram resfriados em dessecador até equilíbrio com ambiente e pesados. O resultado do conteúdo de cinzas nas amostras foi calculado por diferença entre os pesos inicial e final (em %).

2.4.6. Perfil mineral dos tibiotalarsos

O teor de cálcio, fósforo e manganês dos tibiotalarsos foi determinado por espectrometria de emissão óptica por plasma (espectrômetro ICPE-9000/ Shimadzu) de acordo com os métodos analíticos do CBAA (2013). Para este procedimento, 2 gramas de osso foram desengordurados por imersão em éter de petróleo durante 8 horas. Ao fim deste período, as amostras foram retiradas do dedal de extrator Soxhlet e inseridas em cadinhos para queima em mufla por 8 horas à temperatura de 600°C. Ao finalizar a queima, os ossos foram triturados no cadinho e imediatamente, adicionou-se 20 ml de HCl 1:1 para desidratar a sílica e solubilizar os minerais (amostra repousou durante 20 min). O conteúdo dos cadinhos foi filtrado em balão de 100 ml, tendo o cuidado de lavar várias vezes o cadinho para evitar perdas de amostra. A solução resultante foi agitada e analisada no espectrômetro (ICPE-9000/ Shimadzu), conforme as diluições e curva de calibração pré-estabelecidas para cada elemento. A conteúdo dos minerais (Ca, P e Mn) nos ossos foi calculado conforme as equações a seguir:

$$\text{Mineral (mg/kg)} = \frac{CxVxFD}{m}$$

$$\text{Mineral (\%)} = \frac{\text{Mineral (mg/kg)}}{10000} \times 100$$

Onde:

C: Concentração do elemento na solução da amostra (mg/L);

V: Volume do balão inicial da solução da amostra (mL);

m: Massa da amostra (g);

FD: Fator de diluição (se utilizado).

2.4.7. Avaliação histológica de cartilagem da epífise proximal

Na avaliação histológica, foi colhida aproximadamente 1 cm da cartilagem da epífise proximal dos tibiotarsos esquerdos para quantificar os condrócitos presentes, de acordo a metodologia de Lillie (1954). A cartilagem articular foi extraída com o auxílio de bisturi, fixadas em solução de formol tamponado a 10% por 48 horas à temperatura ambiente e posteriormente as amostras foram imersas em álcool 70%.

Para realizar o processo de desidratação as amostras foram submersas em soluções alcoólicas de concentrações crescentes (90%, 95% e álcool absoluto (4x)). Após este processo, elas foram diafanizadas em solução de etanol-xileno (1:1), seguido de xileno (100%, (2x)), e incorporadas em mistura de xileno-parafina (1:1) previamente aquecida em estufa a 60°C. Em seguida as amostras foram incluídas em parafina histológica e, com o auxílio de micrótomo, cortes histológicos semisseriados de 6 µm de espessura foram obtidos. O material foi aderido à lâmina, corado com Hematoxilina-Eosina (HE) (BHEMER; TOLOSA, 2003) e protegido com lamínula, para desta forma realizar a quantificação do número de condrócitos por microscopia de luz.

2.4.7.1. Quantificação do número de condrócitos

Realizou-se o registro fotográfico da cartilagem histológica por meio do software do microscópio (Leica QWin; Leica Imaging Systems, Wetzlar, Alemanha) com objetiva de 40 ×. Um total de 25 fotomicrografias foram registradas de cada lâmina histológica, para realizar a contagem do número de condrócitos com auxílio das ferramentas do programa ImageJ (Figura 7).

Figura 7 - Fotomicrografia da cartilagem articular de frangos de corte tratados com sulfato de condroitina e manganês. Observa-se populações de condrócitos dispostos em ilhas (grupos isógenos).



Fonte: Própria autoria
 Coloração de HE. Objetiva de 40x.

Cada fotografia foi inserida no programa ImageJ e examinada para obter o total de celular por unidade experimental. Para a contagem de células nas imagens, foi utilizada uma área de aprox. 1,7 cm².

2.5. *Análise estatística*

Os efeitos da suplementação de sulfato de condroitina (α_i) e manganês (β_j), assim como a sua interação $(\alpha\beta)_{ij}$ nos resultados da qualidade de osso foram analisados de acordo com o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

Sendo:

Y_{ijk}: valor observado para a variável em estudo, referente a k-ésima repetição da combinação do i-ésimo nível do sulfato de condroitina com o j-ésimo nível de manganês;

μ: média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo;

α_i : efeito do i-ésimo nível do sulfato de condroitina no valor observado Y_{ijk} ;

β_j : efeito do j-ésimo nível de manganês no valor observado Y_{ijk} ;

$(\alpha\beta)_{ij}$: Efeito da interação do i-ésimo nível do sulfato de condroitina com o j-ésimo nível de manganês;

e_{ijk} : erro associado ao valor observado Y_{ijk} ;

Após a análise dos resultados serem verificados quanto à presença de dados discrepantes, pressupostos de normalidade de erros de observação e homogeneidade de variâncias, foram submetidos à análise de variância, utilizando o GLM *Procedure* do sistema operacional Modelo Linear Geral (GLM) do SAS® (SAS Institute, 2002, Cary, NC) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 10% de significância ($P < 0,10$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para o conteúdo mineral ósseo (CMO), área óssea (AO), densidade mineral óssea (DMO), força máxima de quebra (FMQ) e cinzas dos tibiotarsos de frangos de corte com 47 dias de idade encontram-se na Tabela 28. Observou-se interação significativa entre os fatores sulfato de condroitina e manganês nas médias de FMQ (Tabela 29).

Tabela 28 - Médias observadas para os resultados de qualidade dos tibiotarsos

Fator	AO	CMO	DMO	FMQ ¹
Sulfato de condroitina (SC)				
0,00 %	7,59b	1,42	0,181	365,63
0,06 %	8,03a	1,45	0,180	357,26
0,12 %	8,04a	1,49	0,185	396,22
0,18 %	7,69ab	1,35	0,172	360,57
Manganês (Mn)				
0 mg/kg	7,90ab	1,44	0,181	374,58
40 mg/kg	7,98a	1,44	0,179	378,34
80 mg/kg	7,63b	1,41	0,179	356,84
ANOVA		Probabilidade		
SC	0,0084	0,3575	0,3710	0,2237
Mn	0,0370	0,8912	0,9530	0,4335
Interação SC x Mn	0,1243	0,4587	0,3730	0,0937
CV ² (%)	6,76	19,69	14,80	18,71

Conteúdo mineral ósseo (CMO, g); área óssea (AO, cm²); densidade mineral óssea (DMO, g/cm²); força máxima de quebra (FMQ, N); cinzas (%).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,10$).

¹Interação significativa com desdobramento na Tabela 29.

²Coefficiente de variação.

A adição de SC e Mn nas dietas para frangos de corte não afetaram ($P>0,10$) a CMO e DMO (Tabela 28). Acredita-se que estas medidas sejam a melhor abordagem para rastrear indivíduos com risco de osteoporose e o principal determinante do risco de fratura (VAN DER SCHOUW, 2009). A densidade mineral óssea é a relação entre o conteúdo mineral ósseo e área transversal do osso. Portanto, a análise de densitometria é uma técnica de alta precisão em detectar variações de ganho ou perda de massa óssea, é útil para o acompanhamento das doenças que afetam a mineralização óssea (BARREIRO et al., 2009). Neste sentido, o resultado destas duas variáveis indica que não houve perda de massa óssea e que os tibiotarsos não evidenciaram áreas fracas ou muito porosas, que aumentem os riscos de fraturas ou deformações ósseas. Assim, os ossos avaliados neste estudo tiveram crescimento normal para frangos de corte, sem alterar a formação da matriz óssea e com adequada mineralização.

Observou-se na Tabela 28 que os níveis dos fatores (SC e Mn) interagiram com a AO ($P<0,10$), em que alimentar frangos de corte com as dietas de 0,06% e 0,12% de SC proporcionam aumentos nas áreas ósseas (cm^2) quando comparada com as áreas ósseas das aves que não receberam suplementação de SC. De igual forma, as dietas de 40 mg/kg Mn, apresentaram os tibiotarsos de maiores áreas ósseas (cm^2) em comparação aos resultados das áreas ósseas das aves que receberam a dietas de 80 mg/kg Mn. Estes resultados da suplementação de SC e Mn sobre a área óssea indicam maior crescimento corporal das aves, visto que o desenvolvimento ósseo está intrinsecamente associado ao aumento da taxa de crescimento de componentes do corpo, devido as funções do osso na proteção mecânica de tecidos, órgãos e sustentação da musculatura (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; PIZAURO-JUNIOR et al., 2017). Cabe destacar que o Mn é um mineral que tem afinidade pelos mesmos locais de absorção que minerais como Ca e o P (MACARI et al., 2002). Portanto, a menor área óssea do nível de suplementação de 80 mg/kg Mn pode ser devido ao antagonismo de maiores níveis de manganês na dieta de frangos, ocasionando maior competição com Ca e o P.

Não houve interação entre níveis de sulfato de condroitina dentro de cada nível de manganês para a FMQ (Tabela 29), sugerindo que a resistência à quebra dos tibiotarsos de frangos de corte não foi afetada pelos incrementos de sulfato de condroitina dentro de cada nível de Mn.

Tabela 29 - Desdobramento das médias para força máxima de quebra (FMQ, N) dos tibiotarsos de frangos de corte

Manganês	FMQ (N)			
	Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração)			
	0,00	0,06	0,12	0,18
0 mg/kg	352,78Aa	349,13Aa	434,61Aa	361,81Aa
40 mg/kg	378,31Aa	336,93Aa	420,49Aab	377,62Aa
80 mg/kg	365,81Aa	385,72Aa	333,56Ab	342,29Aa

Médias seguidas com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si nas colunas, maiúsculas não diferem entre si nas linhas pelo teste de Tukey (P<0,10).

Observou-se influência (P<0,10) dos níveis de manganês na dieta com adição de 0,12% de SC, sendo a maior força de quebra (FMQ) apresentada nos tibiotarsos das aves alimentadas com 0,12% de SC e sem adição de Mn, em comparação à força de quebra dos tibiotarsos das aves alimentadas com 0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn (Tabela 29).

Cabe ressaltar que a rigidez dos ossos é resultante da formação de duas matrizes a inorgânica e orgânica. A matriz inorgânica, rica em íons de cálcio e fósforo (fosfato), na forma de cristais de hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ durante o processo de mineralização (JOHNSON et al., 2015; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017), e a matriz orgânica principalmente rica em colágeno, lipídeos, proteoglicanos e outras proteínas estruturais responsáveis por proporcionar a elasticidade óssea (JOHNSON et al., 2015). Neste sentido, possivelmente o nível de 0,12% de SC sem Mn na dieta de frangos de corte, forneceu estabilidade à matriz orgânica do osso, influenciando diretamente nas concentrações dos minerais, evitando desequilíbrios iônicos e outorgando proteção para a matriz inorgânica, daí a maior resistência a quebras. Segundo Favero et al. (2013); Reece (2006); Tufarelli e Laudadio (2017), a capacidade do osso em resistir à compressão, também está relacionada ação da glicosiltransferase enzimas que desempenham papel crítico na formação e alongamento das cadeias GAG na biossíntese de proteoglicanos no tecido conjuntivo, que são proteínas essenciais para o crescimento da placa óssea e para a formação da cartilagem óssea de aves. Conforme Anderson et al. (2005), os GAGs são essenciais no processo de ossificação endocondral, responsável pelo crescimento longitudinal dos ossos longos devido à calcificação do disco epifisário.

Houve perda da resistência dos ossos com cada aumento do nível de suplementação de manganês na dieta de 0,12% de sulfato de condroitina, este fato pode ser explicado como antagonismo do Mn. Conforme Bassi et al. (2021), à medida que aumenta a suplementação de

Mn na dieta, a concentração de Ca nos ossos diminui. Desta forma, menor quantidade de Ca devido à competição com o Mn provoca deficiências na mineralização óssea diminuindo a resistência dos ossos. Segundo Shim et al. (2012), quando a mineralização óssea é deficiente, afeta a resistência e conseqüentemente o osso perde a capacidade de resistir a gravidade e ao peso do próprio frango. O resultado do manganês na dieta com 0,12% de SC não era esperado porque este mineral é um cofator requerido para diversas enzimas como galactotransferase e glicosiltransferase necessárias para produção cartilagem, glicosaminoglicanos e glicoproteínas (Reece, 2006), substancias associadas com proporcionar aos ossos, maior resistência.

Os resultados para cinzas, teores de cálcio, fosforo, manganês e números condrócitos dos tibiotarsos de frangos de corte com 47 dias de idade são apresentados na tabela 30. Na análise de perfil mineral dos tibiotarsos das aves, observou-se que os níveis de SC não influenciaram a porcentagem de cinzas, teores de cálcio, fósforo e manganês ($P>0,10$). Este resultado indica que o SC não foi suficiente para interagir com a composição mineral dos tibiotarsos, de forma que melhorasse a qualidade dos ossos. Contudo, não alterar as concentrações dos minerais pela presença do sulfato de condroitina (elemento da matriz orgânica) determina o estado de equilíbrio entre os compostos inorgânicos do osso (predominantemente íons de cálcio, fósforo e microminerais) e a matriz orgânica (colágeno, lipídeos, proteoglicanos - glicosaminoglicanos e outras proteínas estruturais) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017), apresentando-se a formação do tecido ósseo pela ossificação endocondral de maneira adequada. De acordo com Müller et al. (2012), a composição dos minerais nos ossos não é fixa, mas em casos de distúrbios severos, haverá mobilização dos minerais, o qual alterarão suas concentrações, aspecto não verificado nesta pesquisa.

Na tabela 30, os níveis de suplementação de Mn não interagiram com os teores de cinzas, fósforo e manganês, indicando que a aumento de manganês não refletiu em mudanças na mineralização óssea dos tibiotarsos de frangos de corte. Contudo, verificou-se influência ($P<0,10$) dos níveis de manganês no teor de cálcio dos tibiotarsos de frangos de corte, em que os ossos das aves alimentadas com 40 mg/kg de Mn apresentaram maiores concentrações de cálcio em comparação aos ossos das aves alimentadas com a inclusão de 0 mg/kg de Mn. Este resultado indica que inclusões moderadas de manganês (independentemente do nível de inclusão de SC nas dietas) aumentam o nível de cálcio nos tibiotarsos de frangos. Conforme Sunder et al. (2006), a suplementação de Mn na dieta de frangos de corte até o nível de 100 mg/kg de Mn pode melhorar a retenção de Ca, P e Zn nos ossos. De igual forma, Pacheco (2012)

avaliou diferentes níveis dietéticos de Mn orgânico (25, 45, 65, 85 e 105 mg/kg) sobre o desenvolvimento ósseo de frangos de corte (1 a 42 dias de idade) e verificou que o grau de mineralização óssea aumentou conforme elevação da concentração de Mn na dieta.

Tabela 30 - Médias para material mineral e número de condrócitos de tibiotarsos de frangos de corte.

Fator	Cinzas (%)	Cálcio (%)	Fosforo (%)	Manganês (mg/kg)	Condrócitos
Sulfato de condroitina (SC)					
0,00 %	50,70	10,50	5,79	4,37	2776,83
0,06 %	50,27	10,31	5,67	4,82	2766,44
0,12 %	50,43	10,21	5,67	4,60	2759,38
0,18 %	50,94	10,16	5,73	4,55	2742,42
Manganês (Mn)					
0 mg/kg	50,34	9,98b	5,64	4,29	2779,19
40 mg/kg	50,96	10,794a	5,77	4,76	2695,47
80 mg/kg	50,44	10,12ab	5,72	4,70	2809,15
ANOVA			Probabilidade		
SC	0,8243	0,8031	0,5282	0,7579	0,9905
Mn	0,6092	0,0267	0,3493	0,3089	0,4488
Interação SC x Mn	0,4535	0,8735	0,7895	0,8959	0,3205
CV ¹ (%)	5,22	11,87	6,43	34,44	13,21

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹Coefficiente de variação.

O número de condrócitos da cartilagem articular não foi alterado (P> 0,10) pela adição de sulfato de condroitina e manganês. Este resultado sugere que a composição da matriz extracelular da cartilagem articular da epífise proximal da tíbia não sofreu alterações e processos degenerativos que alterem a formação óssea. Além disso, não verificar efeito na inclusão dos níveis dos fatores, também indica que não foi afetada a função principal dos condrócitos de produzir e manter as propriedades biomecânicas da cartilagem, pela síntese dos componentes da matriz extracelular, segundo Wollenweber et al. (2006).

Os resultados da suplementação de SC na Tabela 31, apresentam as dietas com os níveis de suplementação de 0,06% e 0,12% de SC como àquelas que influenciam (P<0,10) o desenvolvimento ósseo das aves com maiores comprimentos da tíbia (CT), peso relativo (Prela), perímetro da epífise proximal (PeEP), perímetro da epífise distal (PeED) e índice Seedor (IS). A densidade óssea medida por meio do índice Seedor, refere-se à massa de material por volume

de osso e é considerada como reflexo do conteúdo mineral ósseo, incluindo componentes orgânicos (colágeno) e inorgânicos (hidroxiapatita mineral) (RATH et al. 2000). Neste sentido, maiores índices de Seedor determinam que a suplementação até 0,12% de SC pode melhorar a densidade óssea dos tibiotarsos, indicando aumento do conteúdo mineral por unidade de volume em frangos de corte e, quanto maior a mineralização óssea menor riscos de apresentar fraturas. Similar aos resultados deste estudo, Muraleva et al. (2012) demonstraram que a combinação de glicosaminoglicanos aumentaram a densitometria óssea e a força de osso em ratos.

Tabela 31 - Médias observadas para qualidade física dos tibiotarsos de frangos de corte

Fator	PT	CT	IS	PRela	PeEP	PeED	PeD
Sulfato de condroitina (SC)							
0,00	18,07	10,83b	167,10ab	0,63ab	7,98ab	6,52ab	3,66
0,06	18,49	10,88ab	169,49ab	0,65a	8,08a	6,63ab	3,70
0,12	18,99	11,06a	172,10a	0,64ab	8,03ab	6,70a	3,76
0,18	18,04	10,93ab	161,48b	0,62b	7,85b	6,51b	3,73
Manganês (Mn)							
0 mg/kg	18,70	10,92	170,44	0,63	8,06	6,65	3,72
40 mg/kg	18,29	10,94	166,04	0,64	7,97	6,58	3,71
80 mg/kg	18,20	10,91	166,65	0,63	7,93	6,57	3,72
ANOVA				Probabilidade			
SC	0,3135	0,0713	0,0553	0,0544	0,0439	0,0186	0,3354
Mn	0,5764	0,8979	0,3367	0,7796	0,1396	0,2232	0,9002
Interação SC x Mn	0,8468	0,3858	0,9631	0,6435	0,8841	0,7215	0,4135
CV ¹ (%)	10,85	2,75	7,99	8,37	3,44	3,14	5,86

***PT**: peso absoluto dos tibiotarsos (g); **CT**: comprimento do tibiotarso (cm), **IS**: índice Seedor (mg/mm); **PRela**: peso relativo do tibiotarso; **PeEP**: perímetro da epífise proximal (cm); **PeED**: perímetro da epífise distal (cm); **PeD**: perímetro da diáfise (cm).

Sulfato de condroitina (%p/p: kg de SC/ kg de ração).

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna e em cada fator não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹Coefficiente de variação.

Em relação às mudanças morfológicas, a suplementação com sulfatos de condroitina (0,06% e 0,12%) promoveu maior desenvolvimento dos tibiotarsos. Conforme Souza e Pinhal, 2011, Melo et al. (2008) e Vieira et al. (2010), o sulfato de condroitina apresenta propriedade condroestimulante, aumentando a síntese de condrocitos e de compostos que contribuem para a manutenção da integridade estrutural da matriz extracelular, assim como e a sua carga negativa ajuda na seletividade da membrana basal da célula na ligação de cátions (como sódio, potássio e cálcio) e na retenção de água nos tecidos. Portanto, o SC auxiliou na manutenção do equilíbrio da matriz orgânica dos ossos e sua interação com a inorgânica, contribuindo na

ligação de íons de cálcio e fósforo (fosfato), transportando-os para a placa de crescimento epifisária para precipitarem em cristais de hidroxiapatita e completarem o processo de calcificação óssea (GOFF, 2017; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Conforme Santos et al. (2019), o crescimento longitudinal ósseo ocorre por meio da proliferação de condrócitos, produção e mineralização da matriz cartilaginosa, hipertrofia, invasão hipertrófica de condrócitos e a subsequente degeneração dos condrócitos (células do tecido cartilaginoso), que resulta em depressões que devem ser rapidamente preenchidas pelos osteoblastos, chamados osteócitos. Neste sentido, houve desenvolvimento expressivo dos tibiotarsos com a suplementação de 0,06% e 0,12% de SC, que conduziram a maiores comprimentos e perímetros epifisários.

Em concordância com este estudo, Sgavioli et al. (2017) e Martins (2018) constataram que a inclusão de glicosaminoglicanos (a suplementação de sulfatos de condroitina e de glucosamina) aumentaram as características morfológicas (comprimento, largura das epífises proximal e distal, assim como a largura da diáfise) dos tibiotarsos de frangos de corte aos 42 dias de idade. De igual forma, Wolff (2014) descreve que a associação dos glicosaminoglicanos polissulfatados levou ao aumento da proliferação celular (condrócitos), demonstrando que a placa de crescimento da epífise tibial promoveu o crescimento ósseo longitudinal após a administração de condroprotetores.

De maneira geral, quando não foi verificado efeito da suplementação (SC e Mn) sobre a proliferação condrócitos, CMO e DMO (variáveis relacionadas com perda de massa óssea), assim como, observou-se que aumento moderado de sulfato de condroitina e manganês resulta em melhora na qualidade dos ossos dos frangos de corte, principalmente relacionados a incrementos nas porcentagens de cálcio, resistência à quebra e aumentos nas características morfológicas dos tibiotarsos como AO, comprimentos, perímetros das epífises e diáfise. Pode-se inferir que, para o presente estudo, os GAGs mantiveram o equilíbrio dos processos anabólicos e catabólicos na cartilagem articular, estimularam a síntese de proteoglicanos e colágeno, protegendo os condrócitos de maneira que estimulou suas funções de biossíntese da matriz óssea (ALTMAN et al., 1989; CLARK, 1991; CASTROGIOVANNI et al., 2016). Do mesmo modo, os GAGs contribuíram para manutenção da integridade estrutural da matriz extracelular, estimulando os efeitos catabólicos na supressão de mediadores inflamatórios e inibição da degeneração (HERRERO-BEAUMONT et al., 2008; PECCHI et al., 2012). Além

disso, o Mn participaria na síntese de mucopolissacarídeos, aumentaria o crescimento longitudinal da tíbia, devido à diminuição da apoptose de condrócitos (WANG et al., 2015).

Portanto, os glicosaminoglicanos podem atuar como uma estratégia para alimentação de frangos de corte de crescimento rápido, pois contribui para desenvolvimento ósseo e prevenção de lesões estruturais ou redução da progressão das alterações patológicas da estrutura óssea ainda em formação. De acordo com Almeida-Paz, (2008) a principal causa das doenças músculoesqueléticas em frangos de corte está associada ao tecido conjuntivo imaturo que não possui capacidade de aguentar o aumento de peso proporcionado pelo rápido crescimento. Ademais, Williams et al. (2004) descreveram que aves selecionadas para crescimento rápido têm sido relacionadas com piores propriedades mecânicas dos ossos e aumento de fraturas, explicadas pela porosidade aumentada, junto com a mineralização reduzida. Assim como, conforme relatado por Nääs et al. (2012) a baixa resistência óssea para suportar o peso corporal, devido a esqueletos não adaptados para suportar o rápido ganho de peso, pode estar relacionada à incidência de pernas tortas ou problemas de locomoção em frangos de corte.

4. CONCLUSÕES

- Inclusões de 80 mg / kg manganês nas dietas não refletem em melhoras das características de qualidade de osso de frangos de corte e dependendo das interações com o sulfato de condroitina podem prejudicar o desenvolvimento ósseo e sua resistência a fraturas.
- A suplementação de 0,12% de SC, bem como a inclusão de 40 mg / kg Mn nas dietas de frangos de corte, interagem com a matriz óssea, contribuindo na qualidade dos tibiotarsos principalmente nos atributos morfológicos, teor de cálcio e resistência à quebra.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao laboratório de avicultura da FZEA/USP, ao laboratório de ciência da carne (LCC) da FMVZ/USP e laboratório de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV/UNESP pelo apoio em infraestrutura. Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo nº 2018/09012-5).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA-PAZ, I. C. L. Problemas locomotores em frangos de corte - revisão. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, Campinas, v. 2, n. 3, p. 263 – 272, 2008.

ALMEIDA-PAZ, I. C. L. et al. Selecting appropriate bedding to reduce locomotion problems in broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 12, n. 3, p. 189-195, 2010. Doi: 10.1590/S1516-635X2010000300008

ALTMAN, R. D. et al. Therapeutic treatment of canine osteoarthritis with glycosaminoglycan polysulfuric acid ester. **Arthritis & Rheumatology**, Hoboken, v. 32, n. 10, p. 1300-1307, 1989. Doi: 10.1002/anr.1780321016.

ANDERSON, J.W.; NICOLOSI, R.J.; BORZELLECA, J.F. Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. **Food and Chemical Toxicology**, Kidlington, v. 43, n. 2, p.187–201. 2005. Doi: 10.1016/j.fct.2004.11.006.

ANGEL, R. Metabolic disorders: limitations to growth of and mineral deposition into the broiler skeleton after hatch and potential implications for leg problems. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v. 16, n. 1, p. 138 – 149, 2007. Doi: 10.1093/japr/16.1.138

BARREIRO, F.R. et al. Densitometric and biochemical values of broiler tibias at different ages. **Poultry Science**, Cary, v. 88, n. 12, p. 2644-2648, 2009. Doi: 10.3382/ps.2008-00079.

BASSI, G. S. et al. Níveis e fontes de manganês sobre o desempenho e a resistência óssea em frangos de corte. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 3, e17310313182, p. 1-10, 2021. Doi: 0.33448/rsd-v10i3.13182

BASSLER, C.; ROVATI, L.; FRANCHIMONT, P. Stimulation of proteoglycan production by glucosamine sulfate in chondrocytes isolated from human osteoarthritis articular cartilage in vitro. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 6, n. 6, p. 427 – 434, 1998. Doi: 10.1053/joca.1998.0146.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 1. ed., Manole: São Paulo, p. 331-331, 2003.

CASTROGIOVANNI, P. et al. Nutraceutical supplements in the management and prevention of osteoarthritis. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 17, n. 12, p. 1-14. 2016. Doi: 10.3390/ijms17122042.

CLARK, D. M. Current concepts in the treatment of degenerative joint disease. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Yardley, v. 13, n. 9, p. 1439-1446, 1991.

COBB 500TM. Suplemento de nutrição e desempenho do frango de corte. Arkansas: cobb-vantress, 2015. Disponível em: <<https://www.cobb-vantress.com/pt/academy/product-guides>>. Acesso: 09 nov. 2018.

COBB-VANTRESS. Manual de manejo de frangos de corte. Arkansas: cobb-vantress. 2014.

Disponível em: < <https://www.cobb-vantress.com/pt/academy/management-guides>>. Acesso em: 09 nov. 2018.

DE MATTEI, M. et al. High doses of glucosamine HCl have detrimental effects on bovine articular cartilage explants cultured in vitro. **Osteoarthritis and Cartilage**, Kidlington, v. 10, n. 10, p. 816-825. 2002. Doi: 10.1053/joca.2002.0834.

ELEOTÉRIO, R. B. et al. Glucosamine and chondroitin sulfate in the repair of osteochondral defects in dogs: clinical-radiographic analysis. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 5, p. 587-596, 2012. Doi:10.1590/S0034-737X2012000500003

FENTON, J. I. et al. The effects of glucosamine derivatives on equine articular cartilage degradation in explant culture. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 8, n. 6, p. 444-451, 2000. Doi: 10.1053/joca.1999.0320.

GOFF, J.P. Cartilagem, ossos e articulações. In: Reece, W.O. (eds.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 13ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.575-595, 2017.

GONÇALVES, G. E. et al. Effects of chondroitin sulfate and sodium hyaluronate on chondrocytes and extracellular matrix of articular cartilage in dogs with joint disease. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 93 – 102, 2008. Doi: 10.1590/S0102-09352008000100014

HANSON, R. R. et al. Oral treatment with a glucosamine-chondroitin sulfate compound for degenerative joint disease in horses: 25 cases. **Equine Practice**. Mission Viejo, v. 19, n.9, p.16–22. 1997.

HERRERO-BEAUMONT, G. et al. Effect of chondroitin sulphate in a rabbit modelo of atherosclerosis aggravated by chronic arthritis. **British Journal of Pharmacology**, Hoboken, v.154, n.4, p.843-851, 2008. Doi: 10.1038/bjp.2008.113.

JOHNSON, M. et al. Genetic regulation of bone metabolism in the chicken: similarities and differences to Mammalian systems. **Plos Genetics**, San Francisco, v.11, n. 5, p.1-19, 2015. Doi: 10.1371/journal.pgen.1005250

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 13ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 125-154, 2017.

LILLIE, R. D. **Histopathologic Technic and Practical Histochemistry**. 3rd ed. McGraw Hill Book Co., New York, NY, 1954. 501p.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/ UNESP, 2002. 375 p.

MARTINS, J.M.S. **Suplementação de glicosaminoglicanos na ração de frangos de corte**. 176p. Tese (Doutorado) - Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Goiânia, Brasil, 2018.

MELO, E.G. et al. Sulfato de condroitina e hialuronato de sódio no tratamento da doença articular degenerativa em cães. Estudo histológico da cartilagem articular e membrana

sinovial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 83-92, 2008. Doi: 10.1590/S0102-09352008000100013

MÉTODOS ANALÍTICOS. In: CAPUTI, Bruno et al. **Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (CBAA)**. 4.ed. São Paulo: Sindirações, (varias paginações), 1 v. 2013.

MONTANARI, T. **Histologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas**. 3.ed. Porto Alegre: Ed. da autora, 2016. 229 p. Disponível: <<http://www.ufrgs.br/livrodehisto> ISBN: 978-85-915646-3-7> Acesso: 12 jun.2021.

MÜLLER, E.S. et al. Parâmetros químicos, bioquímicos e mecânicos de fêmures de frangos de corte submetidos a diferentes balanços eletrolíticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 6, p.1454-1462, 2012. Doi: 10.1590/S1516-35982012000600020

MURALEVA, N.A. et al. Efficacy of glucosamine alendronate alone and in combination with dihydroquercetin for treatment of osteoporosis in animal model. **The Indian Journal of Medical Research**, v. 135, n. 2, p.221-227, 2012.

NÄÄS, I.A. et al. Use of vitamin D to reducelameness in broilers reared in harsh environments. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 159–232. 2012. Doi: 10.1590/S1516-635X2012000300002

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de lehniger**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1298 p.

OVIEDO-RONDÓN, E.O. et al. Incubation conditions affect leg health in large, high-yield broilers. **Journal of Applied Poultry Research**. Champaign, v.18, n. 3, p.640–646, 2009. Doi: 10.3382/japr.2008-00127

PACHECO, B.H.C. **Níveis dietéticos de zinco e manganês sobre o desempenho, disponibilidade, e mineralização óssea de frangos de corte**. 85p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos, Universidade de São Paulo, Departamento de Zootecnia, Pirassumunga, SP, Brasil, 2012.

PECCHI, E. et al. Potential role of chondroitin sulfate on bone in osteoarthritis: inhibition of prostaglandim E2 and matrix metalloproteinases synthesis in interleukin-1 β -stimulated osteoblasts. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 20, n. 2, p. 127-135, 2012. Doi: 10.1016/j.joca.2011.12.002.

PIZAURO-JUNIOR, J.M. et al. Estrutura e função do tecido ósseo. In: Macari, M.; Maiorka, A. (eds.). **Fisiologia das aves comerciais**. Jaboticabal: Funep, p. 491-513, 2017.

QUEIROZ, M. L. V. et al. Guia pratica para utilização de tabelas de entalpia. Núcleo de Estudos em Ambiência Agrícola e Bem-estar Animal (NEAMBE). 2012. Disponível em:<http://www.neambe.ufc.br/index_noticia_id_12>. Acesso em: 09 nov. 2018.

RATH, N.C. et al. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, Cary, v. 79, n. 7, p. 1024–1032, 2000. Doi: 10.1093/ps/79.7.1024.

REECE, W. O. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara

Koogan, 2006. 926 p.

RIISPOA- Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2017. 108 p.

RODGERS, M.R. Effects of Oral Glucosamine and chondroitin sulfates supplementation on frequency of intraarticular therapy of the horse tarsus. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, Apopka, v.4, n. 2, p. 155- 162. 2006.

RUTZ, F. et al. Crescimento muscular e características da qualidade das carcaças de frangos: genética, nutrição e sanidade, qual o papel de cada um?. In: XVIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura e IX Brasil Sul Poultry Fair, 2017, Chapecó, SC, **Anais...** Concórdia, SC : Embrapa Suínos e Aves, 2017.

SANTOS, E. T. et al. Glycosaminoglycans and vitamin C affect broiler bone parameters. **Poultry Science**, Cary, v. 98, n. 10, p. 4694–4704, 2019. Doi: 10.3382/ps/pez177

SANTOS, E. T. et al. Glycosaminoglycans and vitamin C in ovo feeding affects bone characteristics of chicks. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, 47:e20170304, p. 1-6, 2018. Doi: 10.1590/rbz4720170304

SAS Institute. SAS user's guide: statistics. Release 8.02. Cary, 2002.

SEEDOR, J. G. et al. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, Malden, v. 6, n. 4, p. 339-346, 1991. Doi: 10.1002/jbmr.5650060405.

SGAVIOLI, S. et al. Effect of the addition of glycosaminoglycans on bone and cartilaginous development of broiler chickens. **Poultry Science**, Cary, v. 96, n. 11, p. 4017-4025, 2017. Doi: 10.3382/ps/pex228.

SHIM, M.Y. et al. The effects of growth rate on leg morphology and tibia breaking strength, mineral density, mineral content, and bone ash in broilers. **Poultry Science**, Cary, v. 91, n.8, p.1790–1795, 2012. Doi: 10.3382/ps.2011-01968.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3.ed. 4ª reimpressão. Universidade Federal de Viçosa, 2009.

SOUZA, R.S.; PINHAL, M.A.S. Interações em processos fisiológicos: a importância da dinâmica entre matriz extracelular e proteoglicanos. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, Santo André, v.36, n.1, p. 48-54, 2011. Doi: 10.7322/abcs.v36i1.75

SUNDER, G.S. et al. Effect of supplemental manganese on mineral uptake by tissues and immune response in broiler chickens. **Journal of Poultry Science**, Tsukuba, v. 43, n. 4, p.371-377, 2006. Doi: 10.2141/jpsa.43.371

VAN DER SCHOUW, Y.T. Phytoestrogens and the health of older women. In: Raats, M.; De-Groot, L.; Van Staveren, W. (Eds.). **Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition**, Food for the Ageing Population, Woodhead Publishing, Chapter 21, p. 430-457, 2009. Doi: 10.1533/9781845695484.2.430.

VAN WYHE et al. A comparison of long bone development in historical and contemporary ducks, **Poultry Science**, Cary, v. 91, p. 2858–2865, 2012.

VIEIRA, N. T. et al. Efeitos dos glicosaminoglicanos e sulfato de condroitina A sobre a cartilagem articular normal e com doença articular degenerativa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n.5, p. 1117-1127, 2010. Doi: 10.1590/S0102-09352010000500014

WANG, J. et al. Effects of manganese deficiency on chondrocyte development in tibia growth plate of Arbor Acres chicks. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, Toranomon, v.33, n. 1, p. 23-29, 2015. Doi:10.1007/s00774-014-0563-0

WILLIAMS, B. et al. Bone strength during growth: influence of growth rate on cortical porosity and mineralization. **Calcified Tissue International**, New York, v. 74, n. 3, p. 236-245, 2004. Doi: 10.1007/s00223-002-2124-0.

WOLFF, R.B. Glucosamine and chondroitin sulfate association increases tibial epiphyseal growth plate proliferation and bone formation in ovariectomized rats. **Clinics**, São Paulo, v. 69, n. 12, p. 847-853, 2014. Doi: 10.6061/clinics/2014(12)10

WOLLENWEBER, M. et al. Mimicked bioartificial matrix containing chondroitin sulphate on a textile scaffold of poly(3-hydroxybutyrate) alters the differentiation of adult human mesenchymal stem cells. **Tissue Engineering**, New Rochelle, v. 12, n. 2, p. 345-359, 2006. Doi: 10.1089/ten.2006.12.345.

CAPÍTULO 4
ARTIGO SOBRE PERFIL METABÓLICO DOS FRANGOS DE CORTE

Perfil metabólico do músculo *pectoralis major* de frangos suplementados com sulfato de condroitina e manganês

Julian A. Muñoz¹, Taiane S. Martins², Tainara Aparecida J. Sant'Ana², Pollyana L. M. Garbossa², Lenise F. Mueller¹, Adrielle M. Ferrinho¹, Mirele D. Poleti¹, Daniel R. Cardoso³, Priscila Marques. F. Dalle-Piagge³, Cristiane Soares S. Araújo², Angélica Simone C. Pereira²

¹Departamento de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 13635-900, Brasil.

²Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 13635-900, Brasil.

³Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 13560-970, Brasil.

RESUMO

A nutrição tem sido uma das estratégias usadas na indústria avícola para mitigar a ocorrência e a gravidade das anormalidades no peito. No entanto, as anormalidades exibiram um fenótipo distinto em resposta à alteração no tecido muscular induzida pela seleção genética. Abordagens metabólicas têm sido conduzidas para identificar biomarcadores capazes de discriminar as miopatias dos peitos não afetados. Neste sentido, objetivou-se avaliar, por meio de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de prótons (RMN-1H), as diferenças no perfil metabólico do músculo *pectoralis major* de frangos de corte suplementados ou não com sulfato de condroitina (CS) e manganês (Mn) e sua incidência com a miopatia *white striping*. Um total de 1.152 pintos machos Cobb foram alojados por 47 dias. No processo de abate, foi coletado um peito por unidade experimental para avaliar a presença de miopatia *white striping*. Em seguida, cinco gramas de amostra foram removidos para posterior análise metabólica usando o modelo de grupos contrastantes. Oito amostras de peito de aves alimentadas com a dieta de 0,12% de SC e 80 mg/kg Mn foram usadas como tratamentos contrastantes para determinar as diferenças no perfil metabólico de oito amostras do tratamento controle de 0,00% de SC com 0 mg/kg Mn, por meio de espectroscopia de NMR¹H. Os dados de metabólica foram analisados no MetaboAnalyst 5.0 com auxílio de análise estatística multivariada. Observou-se na análise de presença de miopatias, que independentemente dos níveis de SC ou Mn adicionados nas dietas, os peitos foram classificados com miopatia *white striping* moderada. De acordo com os dados de NMR¹H, os perfis de metabólitos do músculo peitoral das aves

apresentaram um metabolismo em direção às vias glicolíticas, com presença de altas concentrações de lactato, carnosina, creatina e alanina. De acordo com os dados de ^1H -RMN, o músculo peitoral das aves apresentou metabolismo em direção às vias glicolíticas, com presença de altas concentrações de lactato, carnosina, creatina e alanina. A análise nos dois primeiros componentes explicou 52,4% da variância dos dados, e o modelo é válido de acordo com os resultados do teste de validação cruzada. Aumentos nas concentrações de β -alanina e adenosina trifosfato (ATP) foram observados no tratamento controle ($\text{VIP} > 1$). Da mesma forma, o tratamento com contraste mostrou altas concentrações de taurina e alanina ($\text{VIP} > 1$). As vias metabólicas diferencialmente expressas de acordo com os metabólitos importantes foram biossíntese de pantotenato e coenzima-A, biossíntese de ácidos biliares primários, metabolismo de pirimidina, propanoato, purina, taurina e hipotaurina ($\text{Raw } P < 0,1$). Portanto, a suplementação de frangos de corte com SC e Mn possivelmente contribuíram para a redução do estresse metabólico do músculo peitoral, interagindo com a remodelação de matriz extracelular e o sistema enzimático de defesa celular, ativando metabólitos relacionados com proteção mitocondrial e reparação celular, diminuindo a degradação de proteínas musculares associadas aos peitos acometidos com miopatia *white striping*, em aves.

Palavras Chave: Aves, espectroscopia (NMR^1H), glicosaminoglicanos, metabólitos, *white striping*.

1. INTRODUÇÃO

As novas linhagens de frangos de corte foram selecionadas por décadas para aumentar a eficiência alimentar e o rendimento de carne de peito (ZUIDHOF et al., 2014). No entanto, o processo de seleção exerceu tantas mudanças marcantes na composição corporal das aves, que atualmente o setor avícola enfrenta as miopatias em peitos de frangos de corte, um desafio relacionado com o melhoramento genético.

As miopatias são anormalidades ou distorções principalmente nos músculos peitorais dos frangos de corte e estão associadas à degeneração e atrofia de fibras musculares devido ao rápido crescimento (BAUERMEISTER et al., 2009). A etiologia exata das miopatias em frangos de corte ainda não é totalmente elucidada, porém, a ocorrência destas alterações está ligada principalmente à hipertrofia das fibras musculares, que reduzem o espaço disponível para o tecido conjuntivo, o qual é responsável pela sustentação muscular, defesa e nutrição dos tecidos, além de ser essencial para o suporte sanguíneo nos mesmos (VELLEMAN, 2015). A limitação do desenvolvimento do tecido conjuntivo faz com que este não desempenhe suas funções de forma eficiente, principalmente com relação às trocas de nutrientes e produtos do metabolismo celular e ao seu papel como barreira frente a agentes infecciosos (MONTANARI, 2016). Portanto, a hipertrofia das fibras musculares conduzem à vascularização insuficiente, que compromete o suporte de sangue e oxigênio no tecido muscular, levando ao desenvolvimento de hipóxia (PETRACCI et al., 2019), bem como o inflamação do tecido provavelmente devido ao acúmulo de compostos com propriedades osmóticas (isto é, taurina e alanina) ou ao desenvolvimento do estresse oxidativo provocado pela síntese de óxido nítrico, um mecanismo usado pelo tecido muscular na tentativa de superar a hipóxia (BOERBOOM et al., 2018).

Nos últimos anos têm-se observado um aumento da miopatia *white striping* (WS) caracterizada por estrias brancas paralelas às fibras musculares, nas quais a degeneração das fibras musculares ocorre com a infiltração de gordura e tecido conjuntivo (KUTTAPPAN et al., 2012a; KUTTAPPAN et al., 2013b). De acordo o estudo de Petracci et al. (2013) a presença de WS em filés de peito foi de 12,0% (8,9 e 3,1% em grau moderado e severo, respectivamente), quando avaliados aos 45 e 54 dias de idade. Kuttappan et al. (2013a) relataram que aproximadamente 55,8% das aves utilizadas no estudo apresentaram algum grau de WS, sendo de categoria moderada (47,5%) e severa (8,3%), com aves de corte entre 59 e 63 dias de idade.

A miopatia prejudica a aparência, sendo a carne de peito rejeitada pelos consumidores até em 50 % das amostras avaliadas, conforme o grau de severidade (KUTTAPPAN et al., 2012a). Além disso, aves com este tipo de miopatia apresentam problemas relacionados com a redução da capacidade de retenção de água, visto que a degeneração muscular reduz o conteúdo de proteínas contráteis do músculo, incluindo a actina e a miosina, o que resulta em maiores taxas de perdas por cocção durante o processamento e preparo, assim como alta tendência à separação de feixes de fibras musculares associando a defeitos à imaturidade do tecido conjuntivo intramuscular (PETRACCI et al., 2013). Em relação ao pH, os peitos com WS possuem pH final consideravelmente mais alto nas seções superficial e profunda (independentemente da severidade da miopatia), quando comparado com os peitos de frangos considerados normais (PETRACCI et al., 2019).

As causas e origens da WS ainda são desconhecidas. Contudo, estudos foram conduzidos para identificar a etiologia desta anomalia. Mutryn et al. (2015) verificaram que alterações no cálcio intracelular, possível troca do tipo de fibra, hipóxia e estresse oxidativo podem estar intimamente associadas à patogênese dessas miopatias. Boerboom et al. (2018), em estudo metabólico, verificaram distúrbios em frangos de corte afetados por WS, na oxidação de ácidos graxos, especialmente ácidos graxos de cadeia longa e ésteres de carnitina, que estão envolvidos no metabolismo da gordura, assim como distúrbios no ciclo do ácido tricarboxílico, metabolismo da arginina, metabolismo da taurina e osmólitos responsáveis pela inflamação celular. O principal motivo, segundo os autores, para essas mudanças parece estar relacionado com uma situação de hipóxia presente no tecido muscular do peito de frangos de corte.

Neste sentido, abordagens nutricionais podem ser consideradas na tentativa para reativar o fluxo sanguíneo e ativar o desenvolvimento do tecido conjuntivo (endomísio e perimísio), para evitar o estado de hipóxia e estresse oxidativo. Desta forma, suplementos como o sulfato de condroitina e o manganês, tornam-se importantes na dieta de frangos de corte, devido a suas funções no desenvolvimento da matriz extracelular em tecidos conjuntivos de seres vivos.

O sulfato de condroitina estimula a síntese de glicosaminoglicanos e proteoglicanos por meio de mecanismos extracelulares e intracelulares, assim como, em virtude de comprimentos de cadeia longos (unidades dissacarídicas que se repetem) inibe competitivamente as enzimas degradativas dos proteoglicanos na cartilagem e no fluido sinovial (HANSON et al., 1997), inibe a interleucina-1, com elevada atividade na degradação do colágeno tipo II (RONCA et al., 1998) e tem a habilidade de ligar e reter a água dando à cartilagem articular sua resiliência única

à força de impacto (RODGERS, 2006). Já, o Mn é um elemento essencial como cofator requerido para diversas enzimas como galactotransferase e glicosiltransferase necessárias para produção cartilagem e substância óssea básica (mucopolissacarídeos e glicoproteínas) (REECE, 2006).

Neste sentido, a metabolômica torna-se uma ferramenta para elucidar o efeito sinérgico do sulfato de condroitina e o manganês sobre as perturbações metabólicas associadas à miopatia WS, que têm sido associadas ao estresse oxidativo, radicais livres e hipóxia. Segundo Boerboom et al. (2018), a metabolômica é um método que fornece uma impressão digital molecular, resultado da transcrição de genes e modificação de proteínas pós-traducionais em uma célula, tecido ou organismo inteiro em um estado fisiológico específico. Isso é visto como a resposta definitiva do sistema biológico às mudanças genéticas e ambientais.

Diante disso, pretende-se determinar o perfil metabólico de dietas contrastantes (com e sem suplementação de sulfato de condroitina e manganês), por meio do estudo da metabolômica, identificando as vias metabólicas que expliquem diferenças no desenvolvimento muscular e incidência da miopatia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. *Local, aves e delineamento experimental*

O experimento foi conduzido no laboratório de avicultura do departamento de nutrição e produção animal VNP-FMVZ/USP e no Instituto de Química de São Carlos (IQSC/USP), conforme as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/FZEA/USP (processo número 8401180618).

Utilizou-se 1152 pintos de corte machos Cobb de um dia de idade, alojados em 96 boxes de galpão de alvenaria durante 45 dias (sete semanas). A distribuição dos tratamentos foi em delineamento inteiramente ao acaso, arranjados em esquema fatorial (4x3), sendo os fatores: Quatro doses de sulfato de condroitina (0,00; 0,06; 0,12 e 0,18% p/p: kg de SC/ kg de ração) e três doses de manganês (0, 40 e 80 mg/kg), totalizando 12 tratamentos com 8 repetições de 12 aves cada. As unidades experimentais foram equipadas com bebedouros automático tipo nipple, comedouros tubulares e lâmpadas infravermelho de aquecimento de 250 Watts. O programa de luz, práticas de sanidade e manejo adotadas foram de acordo com o manual de manejo de frangos de corte Cobb (2014). O monitoramento das condições ambientais do aviário foi

realizado pelo método de índice Entalpia de conforto (IEC) (QUEIROZ et al., 2012) com auxílio de termo-higrômetro digital.

2.2. Dietas experimentais

As dietas experimentais foram elaboradas à base de milho e farelo de soja, o sulfato de condroitina sódica ($[C_{14}H_{19}NO_{14}SNa_2]_n$; 4-Sulfato de condroitina, origem de cartilagem bovina) foi incluído nas rações em substituição ao material inerte (areia) nas concentrações definidas para cada tratamento. O manganês (quelato de manganês de metionina hidroxí análoga) foi adicionado nas dietas para logo em seguida, misturar por segunda vez na Fábrica de Pré-Mistura, localizada na Seção Fábrica de Rações do laboratório de avicultura do departamento de nutrição e produção animal, VNP-FMVZ/USP, Campus Fernando Costa – Pirassununga.

O programa alimentar usado foi de cinco fases, conforme as recomendações do Suplemento de nutrição e desempenho do frango de corte (COBB 500TM, 2015). A formulação das dietas foi realizada no programa Super Crac 5.7 Windows Versão Master[®] (copyright 1983-2010). As composições percentuais e cálculo das dietas encontram-se na Tabelas 4.

Tabela 4 - Composição percentual das dietas basais para cada fase experimental

Ingredientes (%)	Dietas			
	1 a 7 dias	8 a 21 dias	22 a 35 dias	36 a 47 dias
	Manganês ³	Manganês ³	Manganês ³	Manganês ³
	0-40-80 mg/kg	0-40-80 mg/kg	0-40-80 mg/kg	0-40-80 mg/kg
Milho (7,88%)	55,57	61,44	64,73	67,86
Farelo de soja (45%)	37,83	32,42	27,82	24,96
Fosfato Bicalcico	1,86	1,74	1,48	1,50
Óleo de Soja	2,54	2,27	3,78	3,58
Calcário Calcítico	0,78	0,75	0,72	0,73
Sal comum	0,37	0,37	0,44	0,34
L- Lisina HCL	0,20	0,23	0,14	0,16
DL- Metionina	0,33	0,31	0,22	0,20
L-Treonina	0,10	0,06	0,05	0,05
Premix ^{1,2}	0,20	0,20	0,40	0,40
Cloreto de Colina 70%	0,03	0,03	0,03	0,03
	0,00-0,06-0,12-	0,00-0,06-0,12-	0,00-0,06-0,12-	0,00-0,06-0,12-
Sulfato de condroitina ⁴	0,18	0,18	0,18	0,18
Inerte (areia) ⁵	0,18 a 0,00	0,18 a 0,00	0,18 a 0,00	0,18 a 0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
EM e Nutrientes Calculados (%)				
EM (Mcal/kg)	2,98	3,03	3,17	3,19
Proteína Bruta	22,00	20,00	19,00	18,00
Cálcio	0,90	0,84	0,76	0,76
Fósforo Disponível	0,45	0,42	0,38	0,38
Ácido Linoléico	2,65	2,58	3,41	3,35
Potássio	0,87	0,79	0,70	0,66
Sódio	0,16	0,16	0,20	0,16
Cloro	0,29	0,29	0,31	0,25
Lisina Dig.	1,22	1,12	0,95	0,90
Metionina+Cistina Dig.	0,91	0,85	0,74	0,70
Metionina Dig.	0,61	0,58	0,47	0,44
Treonina Dig.	0,83	0,73	0,65	0,61
Triptofano Dig.	0,25	0,22	0,19	0,18

¹Composição do Premix vitamínico e mineral por kg de ração para frangos de 1 a 21 dias de idade: Ácido fólico (mínimo) 250,00 mg/kg; Ácido pantotênico (mínimo) 3.750,00 mg/kg; Cobre (mínimo) 25,00 g/kg; Colina (mínimo) 86,56 g/kg; Ferro (mínimo)12,50 g/kg; Iodo (mínimo)300,00 mg/kg; Manganês (mínimo)17,50 g/kg; Niacina (mínimo)10,00 g/kg; Selênio (mínimo) 50,00 mg/kg; Vitamina A (mínimo)2.000.000,00 UI/kg; Vitamina B1 (mínimo) 600,00 mg/kg; Vitamina B12 (mínimo)3.500,00 mcg/kg; Vitamina B2 (mínimo)1.500,00 mg/kg; Vitamina B6 (mínimo)1.000,00 mg/kg; Vitamina D3 (mínimo)600.000,00 UI/kg; Vitamina E (mínimo)3.000,00 UI/kg; Vitamina K3 (mínimo)500,00 mg/kg; Zinco (mínimo)12,50 g/kg; Virginiamicina 3.750,00 mg/kg; Nicarbazina 31,25 g/kg.

²Composição do Premix vitamínico e mineral por kg de ração para frangos de a 21 a 47 dias de idade: Ácido fólico (mín.) 200,00 mg/kg; Ácido pantotênico (mín.) 2.866,50 mg/kg; Sulfato de Cobre (mín.) 3000,00 mg/kg; Colina (mínimo) 60,00 g/kg; Sulfato de Ferro (mín.) 9525,00 mg/kg; Iodo (iodato de cálcio; mín.) 254,40 mg/kg; Monóxido de Manganês (mín.)13,50 g/kg; Niacina (mín.) 6.996,00 mg/kg; Selênio (selenito de sódio; mínimo) 75,65 mg/kg; Vitamina A (mínimo)2.044.800,00 UI/kg; Vitamina B1 (mín.) 494,80 mg/kg; Vitamina B12 (mín.) 3.380,00 mcg/kg; Vitamina B2 (mín.)1.260,00 mg/kg; Vitamina B6 (mín.) 551,25 mg/kg; Vitamina D3 (mín.) 508.360,00 UI/kg; Vitamina E (mín.) 3.825,00 UI/kg; Vitamina K3 (mínimo) 688,40 mg/kg; Óxido de Zinco (mínimo)12,54 g/kg; Biotina (mín.) 17,00 mg/kg; Halquinol 7.500,00 mg/kg; Salinomicina 16,50 g/kg.

^{3, 4}Níveis de adição do sulfato de condroitina (SC) e manganês (Mn) de acordo com os tratamentos da Tabela 2: **T1:** 0 de SC e 0 mg/kg de Mn; **T2:** 0 de SC e 40 mg/kg de Mn; **T3:** 0 de SC e 80 mg/kg de Mn; **T4:** 0,06 de SC e 0 mg/kg de Mn; **T5:** 0,06 de SC e 40 mg/kg de Mn; **T6:** 0,06 de SC e 80 mg/kg de Mn; **T7:** 0,12 de SC e 0 mg/kg de Mn; **T8:** 0,12 de SC e 40 mg/kg de Mn; **T9:** 0 de SC e 80 mg/kg de Mn; **T10:** 0,18 de SC e 0 mg/kg de Mn; **T11:** 0,18 de SC e 40 mg/kg de Mn; **T12:** 0 de SC e 80 mg/kg de Mn.

⁵Nível do inerte: Diminui na mesma relação que aumenta o sulfato de condroitina.

2.3. *Abate e coleta de amostras*

Aos 45 dias de idade, realizou-se o procedimento de abate no Abatedouro Escola da Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga, de acordo com o regulamento de fiscalização industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA- MAPA, 2017). Foi selecionada uma ave por unidade experimental considerando o peso corporal, visto que as aves mais pesadas estão relacionadas com maior incidência e severidade da WS. Em seguida, as aves foram pesadas individualmente, marcadas com anilha no pé e submetidas ao período de jejum de alimento de dez horas.

Após este período, as 96 aves foram abatidas pelo deslocamento cervical no laboratório

de avicultura do departamento de nutrição e produção animal VNP-FMVZ/USP, depenada e eviscerada manualmente. De cada carcaça, foram recolhidos os peitos, identificados e cortados para retirar da região cranial direita do músculo *Pectoralis maior*, aproximadamente 5g de amostra, congeladas e armazenadas a -80°C para a análise de metabolômica.

2.4. *Análise metabolômica*

Para realizar a análise de metabolômica foi necessária a obtenção dos grupos contrastantes. Portanto, os 12 tratamentos experimentais foram comparados entre si como fatores independentes. Todos os resultados de desempenho, características de carcaça, cortes comerciais, qualidade de carne, tamanho das estrias da miopatia (*white striping*) e qualidade dos tibiotarsos foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$) e homogeneidade das variâncias. Após a análise dos resultados serem verificados quanto à presença de dados discrepantes e as pressupostos, foi verificada a diferença entre as médias dos tratamentos por meio da estatística do teste de Tukey a 5% de significância, com auxílio do SAS® system 9.0 (SAS Institute, 2002, Cary, NC).

O tratamento com 0,12% de SC e 80 mg/kg de Mn foi selecionado como aquele que apresentou as diferenças mais representativas quando comparado com o tratamento considerado

controle que não recebeu sulfato de condroitina e manganês (0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn). Desta forma, as oito amostras/repetições do tratamento controle (0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn), assim como as oito amostras/repetições do tratamento contrastante (0,12% de SC com 80 mg/kg), foram submetidas à análise de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de prótons (RMN-1H), para determinar as diferenças no perfil metabólico do músculo *pectoralis major* de frangos de corte suplementados ou não com sulfato de condroitina (CS) e manganês (Mn), como é apresentado a seguir:

2.4.1. Extração dos metabólitos polares da carne

A extração de metabólitos foi realizada conforme Ceribeli et al. (2018). Foram utilizados 5g de amostra de peito, coletados durante o abate e armazenadas a -80°C. Sub-amostras de 0,10 g foram pesadas e homogeneizadas por 1 min, usando um disruptor celular comercial (FastPrep®, MP Biomedicals) com 1,0 mL de solução de metanol / água (1: 1) em tubos de homogeneização contendo grânulos de cerâmica. A mistura homogênea foi centrifugada por 10 min a 10.000 g a 10 °C. O sobrenadante foi cuidadosamente coletado e transferido para tubos Eppendorf, e então seco em um concentrador centrífugo (Speed-Vac, Thermo Savant).

As amostras secas foram coletadas e ressuspensas com 750µL de tampão de formato de óxido de deutério 0,05 M (pD 4.1; Sigma-Aldrich) contendo 1 mM do padrão de deslocamento químico interno 3-trimetilsilil-2,2,3,3-d4-propionato (TMSP- d₄; SigmaAldrich). Em seguida, transferiu-se 650µL da solução (amostra + tampão de formato de óxido de deutério + padrão de deslocamento químico) para tubos de ressonância magnética nuclear (NMR) de 5 mm e armazenados para posterior identificação e quantificação de metabólitos, por espectroscopia de RMN.

2.4.2. Identificação e quantificação de metabólitos por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR¹H)

A análise de espectroscopia de alta resolução (RMN ¹H) foi conduzida usando espectrômetro Agilent DD2 com campo magnético de 11,7 T (499,84 MHz para frequência de hidrogênio). A temperatura foi mantida constante a 298 °K (25°C) ao longo da análise de NMR. As amostras do tratamento controle (0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn) e do tratamento contrastante (0,12% de SC com 80 mg/kg) da análise de NMR foram submetidas a pulso de $\pi / 6$ e 64 transientes, coletando em 32.768 pontos complexos abrangendo uma largura espectral

de 14 ppm e atraso de relaxamento de 82 seg aproximadamente, e a sequência de pulso com pré-saturação de água PRESAT (Agilent Technologies) foi empregada para suprimir o pico da água. Os espectros foram processados por correção de fase e linha de base e pela calibração do padrão de deslocamento químico interno TMS- d_4 a 0 ppm usando o software VnmrJ 4.0 (Agilent Technologies).

Os espectros de RMN de prótons foram processados usando o *software* Chenomx NMR Suite Professional 7.7 (Chenomx Inc., Edmonton, Canadá): a fase e a correção da linha de base foram realizadas. Os espectros foram referenciados ao pico de metilo TMS- d_4 . O mesmo pico também foi utilizado como indicador de forma química, ou seja, como padrão interno de quantificação.

Os metabólitos foram quantificados nos espectros 1D NMR 1H de extratos do peito usando o módulo Profiler do software Chenomx NMR Suite Professional com uma biblioteca espectral 1D embutida (biblioteca de 500 MHz de Chenomx NMR Suite 8.0 por referência à concentração de TMS- d_4 como 1 mM. Soluções padrão de carnosina, adenina, hipoxantina, adenosina, inosina, adenosina 5'-trifosfato e inosina 5'-monofosfato (Sigma-Aldrich), e uma mistura dessas soluções em concentração de 1 mM foram usadas para validar alguns dos metabólitos. A quantificação foi baseada na comparação da área de picos de metabólitos selecionados com a área sob o pico de metila TMS- d_4 , que correspondeu a uma concentração conhecida em todas as amostras. A tabela de concentração de metabólito resultante foi utilizada na análise de dados pelo MetaboAnalyst 5.0.

2.5. *Análise de dados*

Os dados metabolômicos foram analisados usando MetaboAnalyst 5.0 (<http://www.metaboanalyst.ca/>). A tabela de concentração de metabólitos foi carregada para MetaboAnalyst e os dados foram normalizados usando transformação logarítmica e escalonamento de dados apenas centralizada na média, antes da análise quimiométrica. Realizou-se a análise de dados supervisionada, por meio da análise de Componentes Principais (PCA) e pela análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA). A validação cruzada foi realizada pela PLS-DA, usando o método de validação cruzada *leave-one-out* e a medida de desempenho "precisão" seguido da análise dos valores de R^2 (capacidade de interpretação cumulativa do modelo) e Q^2 (capacidade preditiva do modelo) que são empregados como indicadores iniciais para avaliar a qualidade do ajuste.

No PLS-DA uma estratégia usada para classificar os metabólitos das amostras foi o método de projeção da variável de importância (VIP) que indica em caixas coloridas as concentrações relativas do metabólito correspondente em cada grupo em estudo. Os metabólitos com os maiores valores VIP foram os discriminadores de grupo com alto impacto metabólico. Os metabólitos com valores de VIP >1 foram considerados significativos e os metabólitos com valores de VIP >2 foram altamente significativos. As análises de vias metabólicas foram conduzidas em conjunto de dados de metabólitos para cada grupo, usando a biblioteca Gallus Gallus (KEGG, acesso em <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>), no MetaboAnalyst 5.0 (<http://www.metaboanalyst.ca/>). Com base na natureza exploratória deste estudo será obtido o metaboloma que apresentará todas as vias diferencialmente expressas de acordo com os valores $P < 0,1$ da análise de enriquecimento e os valores de impacto da via.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados metabolômicos dos tratamentos contrastantes (0,12% de SC com 80 mg/kg e controle: 0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn) são apresentados na Tabela 32. Foram quantificados principalmente 21 metabólitos no espectro de NMR¹H, verificando-se a presença de aminoácidos essenciais e não essenciais, assim como dipeptídeos, nucleotídeos, ácidos orgânicos, nucleósido e monossacarídeos. Observou-se que os três metabólitos mais abundantes nos peitos, de ambos os tratamentos foram a carnosina, creatina e o lactato. Resultado semelhante ao estudo de Cònsolo et al. (2020) avaliaram o perfil metabólico de peitos de frangos de corte, classificados como normais, ou com presença miopatia de estrias brancas (WS: *white striping*) ou peito amadeirado (WB: *wooden breast*) e também observaram o lactato, creatina e carnosina como os metabólitos mais abundantes em todos os peitos, independentemente da sua condição normal ou anormal.

Tabela 32 - Concentração de metabólitos identificados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR¹H)

Metabólitos	Tratamentos	
	Contrastante	Controle
	0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn	0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn
	Média ± E. Padrão (mM)	Média ± E. Padrão (mM)
ATP	0,009 ± 0,002	0,012 ± 0,002
Acetato	0,564 ± 0,104	0,634 ± 0,117
Alanina	0,354 ± 0,034	0,352 ± 0,027
Anserina	0,022 ± 0,007	0,032 ± 0,009
Betaina	0,071 ± 0,011	0,069 ± 0,006
Carnosina	1,605 ± 0,391	1,720 ± 0,323
Creatina	3,730 ± 0,208	3,844 ± 0,311
Creatinina	0,227 ± 0,017	0,249 ± 0,016
Glicose	0,363 ± 0,018	0,452 ± 0,042
Glicina	0,315 ± 0,045	0,328 ± 0,029
IMP	0,496 ± 0,038	0,600 ± 0,056
Inosina	0,188 ± 0,011	0,170 ± 0,017
Isoleucina	0,005 ± 0,0002	0,007 ± 0,001
Lactato	10,714 ± 0,490	10,886 ± 0,793
Leucina	0,047 ± 0,004	0,046 ± 0,007
N, N-Dimetilglicina	0,053 ± 0,005	0,062 ± 0,005
Piruvato	0,024 ± 0,004	0,030 ± 0,007
Taurina	0,415 ± 0,057	0,371 ± 0,092
Treonina	0,078 ± 0,011	0,086 ± 0,006
Valina	0,033 ± 0,004	0,034 ± 0,005
B-Alanina	0,230 ± 0,047	0,318 ± 0,050

A alta concentração de lactato nas amostras de peito dos tratamentos, pode ser explicada, pela maior proporção de fibras glicolíticas ou brancas (menor quantidade de mioglobina) de frangos de corte das linhagens modernas (BRANCIARI et al., 2009; VERDIGLIONE; CASSANDRO, 2013), uma vez que são tecidos que possuem menor número de mitocôndrias no citoplasma e, portanto, não podem ser supridos com oxigênio suficiente para realizar a oxidação aeróbia do piruvato até CO₂, conseqüentemente produzem lactato, a partir de catabolismo anaeróbio da glicose (redução do piruvato), durante atividade muscular extrema (NELSON; COX, 2014).

Neste sentido, ao considerar que frangos possuem uma atividade muscular intensa, as demandas de energia são altas para suprir o rápido crescimento. A creatina torna-se importante porque reage com o fosfato na mitocôndria para formar fosfocreatina, substância usada como fonte de fosfato de alta energia liberado durante o metabolismo anaeróbio (DMITRY, 2021).

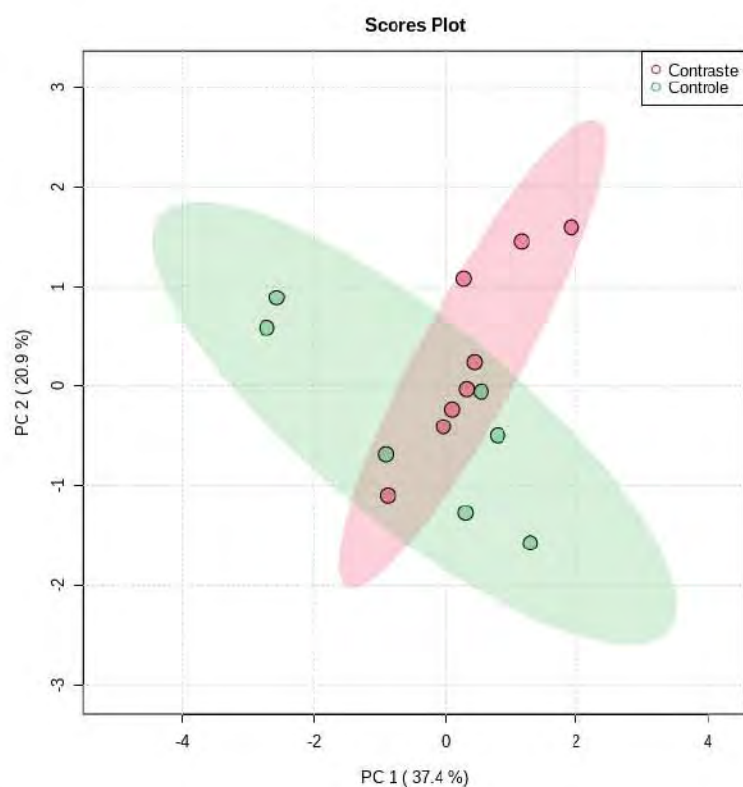
Segundo Isac-García et al. (2016) e Dmitry (2021), a creatina em altas concentrações é encontrada em tecidos com consumo significativo de energia, como músculo esquelético e é produzida para melhorar o desempenho de músculos em alta intensidade, favorecendo a capacidade anaeróbica e a síntese de proteínas.

Em relação às concentrações de carnosina, Hill et al. (2007) descreveram que este dipeptídeo é tipicamente maior nas fibras musculares de contração rápida (tipo II), em comparação com as fibras musculares de contração lenta (tipo I). Portanto, os resultados podem indicar um ambiente anaeróbico no músculo peitoral, devido ao maior número de fibra glicolítica (BRANCIARI et al., 2009; VERDIGLIONE; CASSANDRO, 2013), à hipertrofia exacerbada das fibras (VELLEMAN, 2015) e a imaturidade do tecido conjuntivo no músculo do peito dos frangos de crescimento rápido, que conforme Koomkrong et al. (2015) pode ser verificada na menor espessura do endomísio das aves das linhagens modernas (1,93 μm) em comparação as linhagens de crescimento lento (5,74 μm), defeito no tecido conjuntivo que direciona o tecido muscular à vascularização insuficiente (hipóxia) e estresse oxidativo, problemáticas que podem conduzir à degeneração do tecido (Petracci et al. 2019).

Desta forma, e como estratégia combater as problemáticas de limitação de oxigênio, o metabolismo muscular pode aumentar as concentrações de carnosina como apresentado nos peitos de ambos tratamentos neste estudo, como medida adotada pelo metabolismo muscular, para eliminar as espécies reativas de oxigênio (ERO) e radicais livres, assim como este dipeptídeo exibe excelente efeito antioxidante atribuído ao seu efeito quelante contra íons metálicos divalentes, atividade semelhante à superóxido dismutase (SOD) (GUNEY et al., 2006), regula a atividade de macrófagos, auxilia no tamponamento citosólico e protege contra excitotoxicidade induzida por glutamato (ZEB et al., 2020).

Todos os dados das concentrações dos metabolitos identificados nos tratamentos experimentais (controle vs contrastante) foram analisadas pelo PCA e os perfis metabolômicos são apresentados na Figura 8. Os metabolitos das amostras das aves alimentadas com o tratamento controle (sem suplementação de SC e Mn) podem ser separados parcialmente daqueles das aves alimentadas com o tratamento contrastante (suplementada com 0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn).

Figura 8- Gráfico da análise PCA para os metabólitos dos peitos de aves alimentadas com os tratamentos experimentais.

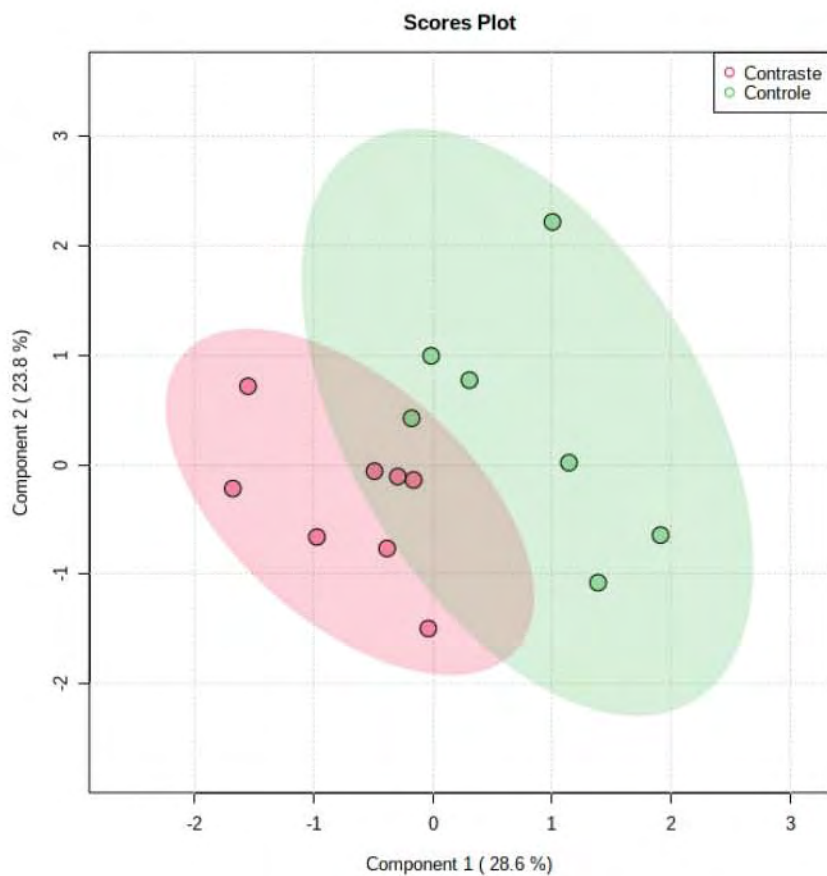


Tratamentos: Contrastante (0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn); Controle: (0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn).
Fonte: Própria autoria

Para verificar as diferenças dos perfis metabolômicos dos tratamentos, visto que apresentaram uma separação fraca das observações analisadas pelo PCA (Figura 8). Utilizou-se o método estatístico multivariável supervisionado (PLS-DA), que permitiu uma separação clara e aceitável nos perfis metabólicos dos tratamentos controle e contrastante (Figura 9).

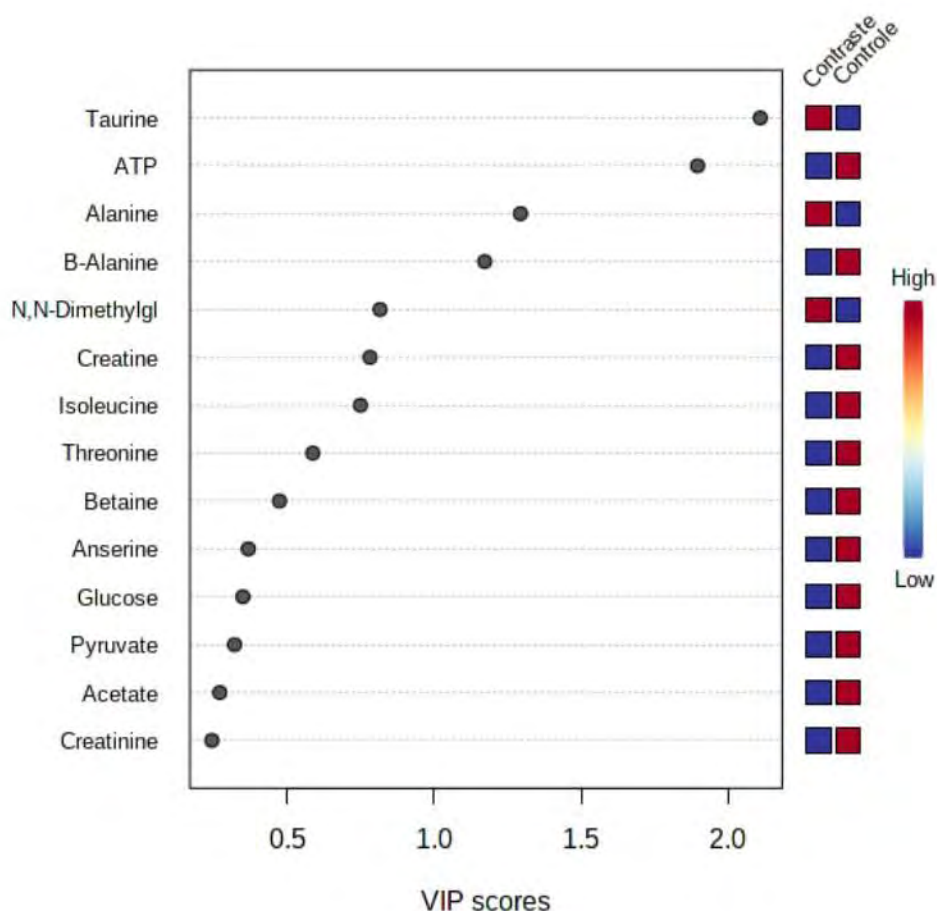
A figura 9 apresenta a sobreposição entre as concentrações de metabólitos do tratamento contrastante e o tratamento controle, sugerindo que os perfis metabólicos compartilham semelhanças, embora de maneiras diferentes. A projeção das diferenças nos perfis metabólicos do PLS-DA nos dois primeiros componentes, explicam 52,4% da variância dos dados e o modelo é válido de acordo com os resultados do teste de validação cruzada ($R^2= 0,87$ e $Q^2= 0,51$). Além disso, com auxílio método de projeção da variável de importância (VIP), ferramenta da PLS-DA, comparou-se os tratamentos experimentais sendo identificados conforme fator de impacto os metabólitos diferencialmente expressos na comparação entre os tratamentos (Figura 10).

Figura 9- Gráfico da análise PLS-DA, destacando a distribuição dos perfis metabólicos de peitos de frangos de corte de cada tratamento (controle e contrastante)



Tratamentos: Contrastante (0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn); Controle: (0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn).
Fonte: Própria autoria

Figura 10 - Gráfico de projeção da variável de importância (VIP) a partir de análises PLS-DA dos tratamentos contrastantes (Metabólitos diferencialmente expressos)



Tratamentos: Contrastante (0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn); Controle: (0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn).
Fonte: Própria autoria

Observou-se 14 principais metabólitos diferencialmente expressos entre o tratamento controle e o contrastante, conforme figura 10. O valor de VIP alto está correlacionado com uma maior contribuição do metabólito correspondente para a discriminação entre os dois grupos (VIP >1: significativos e VIP >2: altamente significativos). Portanto, verificou-se quatro metabólitos importantes para descrever a diferença entre os peitos das aves alimentadas com 0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn, em comparação com os peitos do tratamento controle sem adição de SC e Mn, sendo eles, taurina, adenosina trifosfato (ATP), alanina e β -alanina.

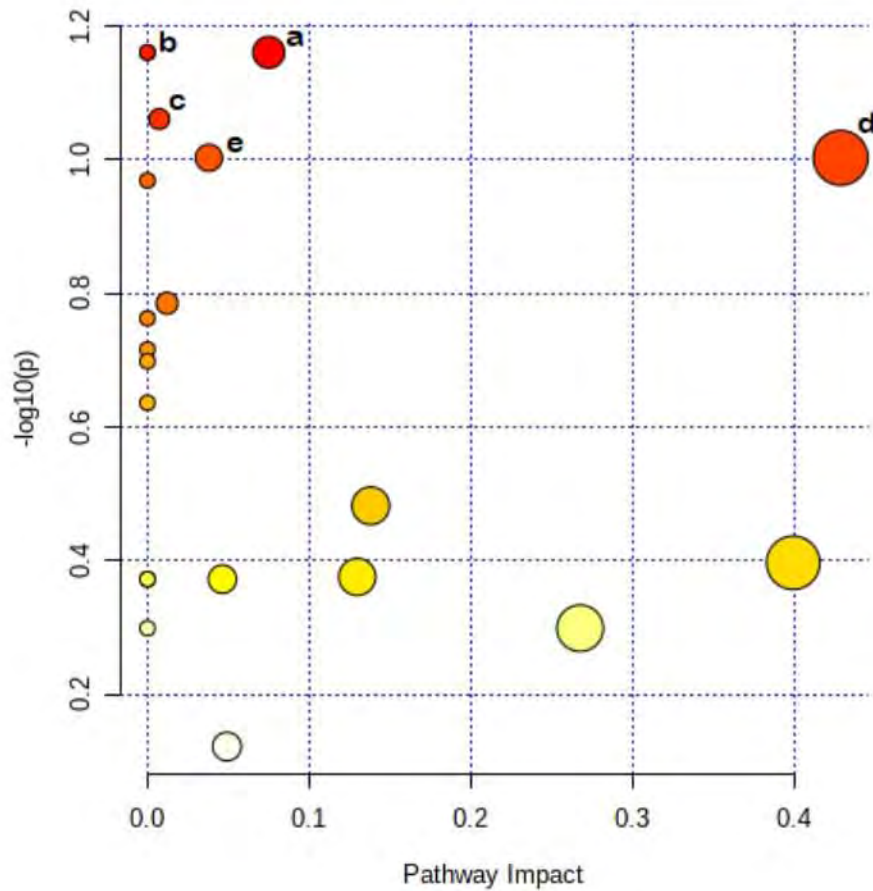
Tabela 33 - Principais vias metabólicas associadas com as diferenças entre os peitos de frangos de corte suplementados ou não com sulfato de condroitina.

Tratamentos: Contrastante vs. Controle					
Vias Metabólicas	Metabólitos importantes¹	Raw p	-Log(p)	FDR	Impacto
Biossíntese de pantotenato e Coenzima-A	β- alanina	0,069	1,161	0,322	0,075
Metabolismo de pirimidinas	β- alanina	0,069	1,161	0,322	0,000
Metabolismo propanoato	β- alanina	0,069	1,161	0,322	0,000
Metabolismo de purinas	ATP	0,087	1,061	0,322	0,007
Metabolismo da taurina e hipotaurina	Taurina	0,099	1,003	0,322	0,429
Biossíntese de ácidos biliares primários	Taurina	0,099	1,003	0,322	0,038
Degradação da valina, leucina e isoleucina	Isoleucina	0,107	0,969	0,322	0,000
Metabolismo da arginina e prolina	Creatina	0,164	0,786	0,382	0,012
Biossíntese do Aminoacil-tRNA	Isoleucina	0,173	0,763	0,382	0,000
Metabolismo de selenocompostos	L-Alanina	0,192	0,717	0,382	0,000
Metabolismo de alanina, aspartato e glutamato	L-Alanina	0,200	0,699	0,382	0,000
Biossíntese de valina, leucina e isoleucina	Isoleucina	0,231	0,637	0,404	0,000
Metabolismo de glicina, serina e treonina	Creatina	0,329	0,483	0,495	0,138
Metabolismo da beta-alanina	β- alanina	0,401	0,397	0,495	0,399
Glicólise/Gliconeogênese	β- D- glicose	0,421	0,376	0,495	0,130
Ciclo do ácido cítrico	Piruvato	0,424	0,373	0,495	0,046
Metabolismo da cisteína e metionina	Piruvato	0,424	0,373	0,495	0,000
Metabolismo de tirosina	Piruvato	0,424	0,373	0,495	0,000
Metabolismo de piruvato	Piruvato	0,502	0,299	0,527	0,268
Metabolismo de glioxilato y dicarboxilato	Piruvato	0,502	0,299	0,527	0,000
Metabolismo de histidina	Anserina	0,755	0,122	0,754	0,049

¹Metabólitos importantes são aqueles representados na caixa vermelha na análise da via conforme seu ID na via KEGG (acesso em <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

Com os principais metabólitos identificados, determinou-se as vias metabólicas associadas com as alterações observadas entre os tratamentos (Contrastante: 0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn; Controle: 0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn). Foram identificadas 21 vias metabólicas importantes (Tabela 33). No entanto, ao considerar o valor de probabilidade (Raw P<0,1) e o teor de impacto das vias (entre maior o impacto mais importante a via metabólica) foi possível determinar a biossíntese de pantotenato e Coenzima-A, biossíntese de ácidos biliares primários, metabolismo da pirimidina, propanoato, purina, taurina e hipotaurina como as 6 vias com efeitos relevantes entre os tratamentos estudados. A figura 11 ilustra as principais vias metabólicas, em que o eixo “X” apresenta os valores de impacto da via da análise, e o eixo “Y” os valores de probabilidade (p) da análise de enriquecimento da via (quanto mais escura a cor, mais significativa será a via metabólica).

Figura 11 - Análise das vias, usando todos os metabólitos que foram significativamente diferentes entre os grupos: Controle vs. Contrastante.



¹(a) Biossíntese de pantotenato e Coenzima-A/ Metabolismo de pirimidinas; (b) Metabolismo de propanoato; (c) Metabolismo de purinas; (d) Metabolismo da taurina e hipotaurina; (e) Biossíntese de ácidos biliares primários.

²Quanto mais escura a cor, mais significativo será o caminho (Raw P<0,1).

³Tratamentos: Contrastante: 0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn; Controle: 0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn.

Como observado na figura 10, β - alanina foi um metabólito com diferença (VIP >1) entre os tratamentos, sendo as maiores concentrações apresentadas pelo tratamento controle (sem adição de SC e Mn) quando comparado com o tratamento contrastante (0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn). Na análise das vias de enriquecimento, destaca-se a β - alanina como o aminoácido principalmente relacionado na biossíntese de pantotenato e CoA, assim como importante para metabolismo da pirimidina e propanoato (Tabela 33).

Conforme Tiedje et al. (2010), em tecidos não neurais, a β - alanina apresenta-se como um aminoácido livre, que faz parte da fração de ácido pantotênico da coenzima A. De igual forma, é um produto do metabolismo da descarboxilação do L-aspartato ou pela degradação da uracila (ciclo metabólico da pirimidina).

A β -alanina é transportada para o músculo esquelético, por meio de um processo saturável realizado pelo TauT, um transportador dependente de Na⁺ e Cl⁻ (JESSEN, 1994). Dentro do

músculo, a β -alanina existe como um componente do dipeptídeo carnosina (β -alanil-histidina) (TIEDJE et al., 2010).

Neste sentido, as maiores concentrações de β -alanina no tratamento controle podem indicar a ocorrência de danos celulares devido ao desequilíbrio ácido-base do músculo peitoral dos frangos de corte e aumento intracelulares de espécies reativas de oxigênio (ERO). Conforme Mutryn et al. (2015), um excesso de ERO no tecido muscular está envolvido no início dos mecanismos inflamatórios, associados às anormalidades dos músculos como as miopatias. Portanto, aumenta-se a síntese endógena do aminoácido, a partir do ciclo da pirimidina (uracila) para seu transporte pelo TauT até o músculo peitoral, onde o β -aminoácido será envolvido na síntese intramuscular de carnosina para controlar a ocorrência da lesão celular (TIEDJE et al., 2010), e como foi descrito anteriormente, este dipeptídeo possui propriedades antioxidantes.

De igual forma, a relação entre alanina e o metabolismo do propanoato pode ser relacionado com estresse oxidativo no músculo de peito dos frangos alimentados com as dietas controle sem inclusão de SC e Mn. O metabolismo do propanoato está envolvido na gliconeogênese no fígado, e perturbações no seu metabolismo pode estar relacionado às alterações em aminoácidos de cadeia ramificada e no metabolismo dos ácidos graxos de cadeia curta (metabolismo lipídico) (NASSAN et al., 2021).

Os peitos de frango de corte das aves que receberam o tratamento controle, poderiam, portanto, apresentar uma alteração no metabolismo lipídico (propanoato), existindo uma peroxidação, que gera uma mistura complexa de produtos fosfolipídicos, incluindo hidroperóxidos, que então se decompõem para formar aldeídos eletrofilicos reativos, segundo West e Marnett (2006). Esses produtos secundários da oxidação lipídica são capazes de reagir com DNA e proteínas, comprometendo potencialmente a estrutura e função dessas biomoléculas (CARVALHO et al., 2018). Portanto, a desintoxicação de aldeídos é essencial para a função celular normal. Neste caso, a produção aumentada de β -alanina como observada no tratamento controle, determina maior síntese de carnosina (β -alanil-L-histidina) e anserina (β -alanil-L-1-metilhistidina), metabólitos importantes porque demonstraram desintoxicar aldeídos, in vivo (CARINI, et al., 2003; YEUM et al., 2010).

Os resultados da figura 10 apresentam a taurina como o metabólito altamente significativo (VIP >2), em que as maiores concentrações deste aminoácido são apresentadas nos peitos de aves alimentadas com 0,12% de SC e 80 mg/kg de Mn, em comparação com o grupo controle. Ao realizar a análise das vias de enriquecimento (Tabela 33), destaca-se a taurina como o aminoácido diferencialmente expresso na biossíntese dos ácidos biliares primários. Este

resultado sugere que os peitos dos frangos de corte alimentados com o tratamento contrastante (0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn) apresentaram maior ação da taurina na estabilização das membranas plasmáticas das células musculares, em resposta às condições de estresse oxidativo e hipóxia induzida pela miopatia *white striping* moderada (resultado da avaliação miopática neste estudo) ou pela maior quantidade de fibras glicolíticas (menor capacidade respiratória e vascularização deficiente). Segundo Petracci et al. (2019), peitos de frangos de corte apresentam redução na densidade capilar e mudanças metabólicas em direção à via glicolítica.

A hipótese que o aumento da taurina no tratamento contrastante pode ser relacionado com a proteção da membrana plasmática da célula, é considerada porque o colesterol é um componente das membranas celulares e um precursor dos hormônios esteróides e dos ácidos biliares (NELSON; COX, 2014). Em condição de estresse celular, a concentração de ácidos biliares primários pode ser aumentada uma vez que estes compostos são os produtos finais do catabolismo do colesterol e geram fluxo de bile e secreção biliar de ácidos, fosfolipídios, colesterol, drogas e outros metabólitos tóxicos (CHIANG, 2013).

Segundo Jiménez et al. (2020), alterações da membrana plasmática celular, permitem a entrada de ácidos biliares na célula, interagindo com organelas intracelulares (mitocôndrias e núcleo), estimulando a produção de radicais livres de oxigênio e nitrogênio, que por sua vez, ativam diversas vias relacionadas com a apoptose celular. Portanto, para manter um equilíbrio nas concentrações de ácidos, a taurina é conjugada aos ácidos primários (cólico e ácido quenodesoxicólico) dando origem às taurocólico e taurodesoxicólico que, uma vez no intestino serão excretados (LIEBERMAN; MARKS, 2013). Os ácidos taurocólico e taurodesoxicólico como permanecem na forma ionizada no intestino, são denominados de sais biliares de alta solubilidade sob pH ácido e resistentes à precipitação por íons Ca^{++} que os ácidos biliares não-conjugados, além disso em termos biológicos, a conjugação torna os ácidos biliares impermeáveis às membranas celulares (SANTOS; LIMA, 2016). Ainda, de acordo com Lieberman e Marks (2013), os ácidos biliares conjugados quanto mais aquosos, menor a absorção ativa no intestino e trato biliar, condição que facilita sua eliminação do organismo.

Na análise de enriquecimento (Tabela 33), observou-se o metabolismo da taurina e hipotaurina como àquele relevante e de maior impacto metabólico para diferenciação dos tratamentos deste estudo. Conforme Schuller-Levis e Park (2004), quantidades significativas da taurina nos fluidos do espaço celular são usadas especialmente em tecidos nos quais o processo inflamatório está ocorrendo ou que estão expostos a oxidantes. De igual forma, Lamônica-Garcia et al. (2008) descreveram que a taurina pode representar diversas funções como osmoregulação, conjugação com sais biliares, detoxificação, ação antioxidante,

imunomodulação, ação no sistema nervoso central, modulação do cálcio, diminuição da formação do ácido hipocloroso (HOCl^\cdot) e modulação de citocinas inflamatórias.

Segundo Li et al. (2017), o alto teor de taurina no tecido poderia desempenhar um papel importante na restauração de membranas fosfolipídicas lesadas por espécies reativas de oxigênio, demonstrando uma capacidade de autorreparação. Portanto, o aumento dos níveis de taurina em peitos de frangos afetados por *white striping*, como apresentado no tratamento contrastante deste estudo, também pode ser indicativo de um mecanismo de autoproteção, que visa reduzir o dano celular causado pela exposição a altos níveis de oxidantes.

Neste sentido, como descrito anteriormente para os outros metabólitos de importância (Figura 10, Figura 11 e Tabela 33), a presença de taurina nos peitos dos frangos de corte das linhagens modernas analisadas neste estudo, implica em alto trabalho metabólico, associado a maior presença de fibras glicolíticas (ambiente anaeróbico), assim como aumento do estresse oxidativo, espécies reativas de oxigênio e hipóxia derivadas da classificação de miopatia *white striping* moderada. Contudo, o aumento da taurina nos peitos de frangos de corte do tratamento contrastante (0,12% de SC com 80 mg/kg) sugere maiores mecanismos de combate para estresse celular, do que o tratamento controle sem inclusão de SC e Mn devido a suas capacidades de autoreparação celular como descrito anteriormente.

De igual forma, a presença de maiores quantidades de taurina em peitos de frangos alimentados com o tratamento contrastante pode indicar maior preservação da integridade dos leucócitos pela competição com ácido hipocloroso (HOCl^\cdot), um agente altamente deletério para a células do hospedeiro (REDMOND et al., 1998; STAPLETON et al., 1998). Isto se deve porque no processo inflamatório, os leucócitos, quando ativados, utilizam a taurina no sistema da enzima mieloperoxidase (MPO) combinada com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o cloro (Cl^-), para formar a taurocloramina, composto de menor citotoxicidade do que o HOCl^\cdot (STAPLETON et al., 1998; SULIMAN et al., 2002).

Outro aspecto importante que pode indicar maior lesão celular nos peitos de frangos de corte do tratamento controle (0,00% de SC com 0 mg/kg de Mn) que também apresentaram miopatia *white striping* moderada, está relacionado com a menor quantidade de taurina e maior concentração de β -alanina, como apresentado na figura 10. Conforme Shetewy et al. (2016), os níveis celulares de taurina podem ser reduzidos pela ação de altas concentrações de β -alanina (os dois aminoácidos competem pelo mesmo transportador TauT). A queda nas concentrações de taurina pode conduzir à diminuição da função respiratória e elevar a geração de superóxido

mitocondrial, que danifica as mitocôndrias e aumenta o estresse oxidativo. Neste ponto, pode-se pensar que existe um efeito positivo da suplementação de SC e Mn devido ao aumento na taurina (capacidade de autoreparação e proteção celular).

De igual forma que no aminoácido taurina (Figura 10), as maiores concentrações do metabólito alanina (VIP>1) foram verificadas em peitos das aves alimentadas com 0,12% de SC e 80 mg/kg de Mn, em comparação os peitos do tratamento controle sem adição de SC e Mn. Este resultado indica, como comentado anteriormente, que os frangos das linhagens modernas apresentam aumento no trabalho muscular, refletindo no acúmulo de alanina. Neste sentido, o acúmulo de metabólitos com propriedades osmóticas como taurina e alanina pode ser devido ao comprometimento do fluxo sanguíneo e a deficiência no suprimento de oxigênio ao músculo causado pela condição de hipóxia (VELLEMAN; CLARK, 2015). Segundo Marzzoco e Torres (1999), a síntese da alanina no músculo tem o objetivo de minimizar os níveis altos H^+ liberado para o sangue (após a reciclagem do lactato no fígado) que tendem a levar a uma acidose que é uma das causas da fadiga muscular, assim como controlar o aumento da amônia celular devido à degradação de aminoácidos no músculo. Portanto, a alanina transporta esses produtos para o fígado, onde o lactato e o piruvato são incorporados na glicose, que volta aos músculos e a amônia é convertida em ácido úrico para excreção (NELSON; COX, 2014).

É importante destacar que o acúmulo de alanina no músculo peitoral de frangos de corte pode ser produto da alteração no *turnover* proteico causado pela miopatia *white striping*, em que o desequilíbrio entre síntese e degradação resulta em aumento da concentração de aminoácidos livres nas fibras musculares (como exemplo: glutamato, leucina e serina) relacionadas à maior degradação de proteínas (CASTRO BULLE et al., 2007). Da mesma forma, o aumento dos níveis dos aminoácidos de cadeia ramificada valina, isoleucina e leucina podem ser indicadores de remodelação da matriz extracelular, associada à alteração no tecido muscular (ABASHT et al., 2016). No entanto, observa-se na figura 10, que os peitos de frangos com maiores concentrações de aminoácidos livres são aqueles pertencentes ao tratamento controle (sem suplementação de SC e Mn). Desta forma, infere-se que o aumento da alanina no tratamento contrastante (0,12% de SC e 80 mg/kg de Mn) seja um mecanismo relacionado com o aumento da capacidade de transporte dos íons de amônia (NH_4^+), para seu processamento no fígado e por causa da sua toxicidade para os tecidos animais e para o cérebro.

Por fim, observou-se menor teor de ATP do tratamento contrastante (0,12% de SC com 80 mg/kg de Mn), em relação ao tratamento controle (sem inclusão de SC e Mn) (Figura 10).

Na análise das vias metabólicas (Tabela 33), verificou-se o ATP como o elemento que representou os efeitos mais importante no metabolismo de purinas dos peitos de frangos de corte. Conforme Rao et al. (1990), Marro et al. (1997) e Maiuolo et al. (2016) nas células musculares, os processos de hipóxia/isquemia induzem um *déficit* energético devido ao catabolismo das reservas de ATP em direção a outros metabólitos de purina, como difosfato de adenosina (ADP), monofosfato de adenosina (AMP), assim como adenosina, inosina, hipoxantina, xantina e ácido úrico (compostos sendo amplamente utilizados como marcadores de hipóxia tecidual). Este resultado sugere que os peitos de aves provenientes do tratamento contrastante apresentaram maior estresse metabólico em resposta à miopatia WS, visto que metabólitos celulares podem dificultar o fornecimento de oxigênio, diminuindo capacidade glicolítica e função mitocondrial, causando defeitos na síntese de ATP.

Além disso, os músculos do peito de frango são conhecidos por serem essencialmente glicolíticos em função e natureza (PETRACCI et al., 2019). A maior quantidade de fibras glicolíticas (menor número de mitocôndrias) podem conduzir à ativação da glicólise anaeróbica, que tem um rendimento energético muito inferior ao da fosforilação oxidativa, levando ao aumento da produção de lactato, que se acumula por haver uma deficiente remoção dos metabólitos. O acúmulo de lactato, NADH e hidrogênio origina acidose intracelular, o que vai frear a ativação das enzimas reguladoras da glicólise, limitando ainda mais a tentativa de manutenção dos níveis de ATP (PEREIRA et al., 2007).

Neste sentido, todas as células requerem uma quantidade equilibrada de purinas para crescimento, proliferação e sobrevivência. Em condições fisiológicas, as enzimas envolvidas no metabolismo das purinas mantêm na célula uma relação equilibrada entre sua síntese e degradação (MAIUOLO et al., 2016). Portanto, peitos ricos em fibras glicolíticas e acometidos com miopatia *white striping* (como os peitos deste estudo) por apresentar a condição de hipóxia nas fibras musculares podem ser relacionados com alterações nas concentrações de metabólitos como o ATP (limitação da síntese e degradação de purinas). De igual forma, Cònsolo et al. (2020) estudando abnormalidades nos peitos de frangos de corte, descreveram alteração no metabolismo das purinas, quando verificaram efeitos nas quantidades de hipoxantina e inosina 5'-monofosfato (IMP) produto da menor perfusão sanguínea de peitos de frangos de corte afetados com a miopatia WS.

Em síntese, as concentrações de ATP do tratamento contrastante relacionadas com o metabolismo das purinas pode determinar que a suplementação de sulfato de condroitina e

manganês ativaram os mecanismos de reciclagem de purinas, que por meio da enzima adenina fosforribosiltransferase forma IMP, nucleotídeo usado para produzir xantossina 5-monofosfato e, finalmente ATP pela ação da enzima inosina 5-monofosfato desidrogenase (RIVERA-PÉREZ et al., 2021). O ATP produzido será usado para minimizar lesões e restaurar os processos celulares essenciais.

Esta hipótese relacionada com a concentração de ATP, junta-se com outros resultados deste estudo para o tratamento contrastante (Figura 10, Figura 11 e Tabela 33), em que há evidências de menor quantidade relativas de alguns aminoácidos (como treonina, isoleucina e Glicina) associados à menor degradação proteica nos peitos das aves alimentadas com o tratamento contrastante, em comparação ao tratamento controle. Assim como o tratamento contrastante aumentou as concentrações de taurina como estratégia de autorreparação e proteção celular devido a problemas relacionados com estresse oxidativo, espécies reativas de oxigênio e hipóxia derivadas da classificação de miopatia *white striping*. De igual forma, o aumento da alanina do tratamento contrastante permite maior capacidade de transporte dos íons de amônia (NH_4^+) para seu processamento no fígado, por causa da sua toxicidade para os tecidos animais.

Por outro lado, a resposta metabólica do tratamento contrastante, também pode ser relacionada à manutenção da integridade da matriz extracelular (MEC) e sua rede complexa de macromoléculas: colágenos, proteoglicanos, glicosaminoglicanos e glicoproteínas adesivas (SOUZA; PINHAL, 2011). Este resultado baseia-se na hipótese de que o SC, quando adicionado às dietas, torna-se disponível para a remodelação da MEC, sem a necessidade de aumentar o desvio de glicose para a formação de glicosaminoglicanos e proteoglicanos, em resposta aos efeitos deletérios das miopatias. Ainda, Abasht et al. (2016) relataram que o remodelamento patológico excessivo da MEC em peitos de frangos afetados com miopatias, provavelmente ocorre devido ao aumento nos níveis de açúcares de nucleotídeos, compostos utilizados em reações de glicosilação para gerar glicosaminoglicanos (condroitina, dermatan, heparina e hialuronano). Velleman e Clark (2015) relacionaram o aumento na produção de decorina, com o aumento na reticulação de colágeno em amostras de peito de uma linhagem comercial de frangos de corte acometidos com miopatia. Conforme Chen e Birk (2013), o SC no tecido conjuntivo muscular facilita as ligações covalentemente com proteoglicanos ricos em leucina de baixo peso molecular, como biglicam e decorim, influenciando os comportamentos celulares, incluindo diferenciação, apoptose, proliferação e migração. Portanto, o sulfato de condroitina quando adicionado na concentração de 0,12% (kg de SC/ kg de ração de ração) nas

dietas de frangos de corte, associa-se aos proteoglicanos da matriz extracelular do músculo esquelético, para ativar os processos essenciais da célula satélites como proliferação e diferenciação em resposta ao dano e regeneração a fibra muscular (VELLEMAN; CLARK, 2015).

De igual forma, o manganês presente na dieta contrastante, como estava em concentrações disponível para uso pelo organismo das aves, possivelmente participou no sistema de defesa das células musculares em associação com o superóxido dismutase (SOD), formando o manganês superóxido dismutase (MnSOD), uma metaloproteína que previne a disfunção mitocondrial ao mitigar as espécies reativas de oxigênio (ERO) ou nitrogênio (ERN) na matriz mitocondrial (COATES; SULLIVAN, 2020), assim como talvez auxiliou no controle da geração de radicais livres (BARBOSA, et al., 2010) produzidos em decorrência do acúmulo de lactato, NADH e hidrogeniões, ou pelo acúmulo de bases púricas como adenosina, inosina, hipoxantina, xantina e ácido úrico derivados do catabolismo de ATP (marcadores de hipoxia tecidual) (PEREIRA et al., 2007) características associadas ao músculo peitoral de frangos de corte abundante em fibras tipo II e acometido com a miopatia WS como apresentado neste estudo. Além disso, pode-se pensar que conforme o nível de estresse oxidativo muscular causado pelas ERO nos músculos com miopatia WS, o manganês disponível pode-se associar com o SOD para reduzir principalmente do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (produzido pelas enzimas do ciclo xantina e NADH) cuja manifestação provoca danos potenciais contra células e tecidos (DENNERY, 2010).

4. CONCLUSÃO

O estudo metabolômica permitiu identificar que peitos acometidos com miopatia *white striping* apresentam alterações no metabolismo de produção de energia, assim como vias metabólicas relacionadas com estresse celular como o metabolismo das pirimidinas, propanoato, purinas, taurina e hipotaurina.

A suplementação de frangos de corte com SC e Mn possivelmente contribuíram para a redução do estresse metabólico do músculo peitoral, interagindo com as vias metabólicas associadas com taurina, alanina, β -alanina e ATP. Metabolitos presentes em peitos acometidos com miopatia *white striping*, devido aos feitos na matriz extracelular e o sistema enzimático de defesa células, na proteção mitocondrial, reparação celular e degradação de proteínas musculares.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao laboratório de avicultura da FZEA/USP, ao laboratório de ciência da carne (LCC) da FMVZ/USP e ao Instituto de Química de São Carlos (IQSC/USP), pelo apoio em infraestrutura e procedimentos experimentais. Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo nº 2018/09012-5).

REFERÊNCIAS

- ABASHT, B. et al. Oxidative stress and metabolic perturbations in wooden breast disorder in chickens. **PLoS ONE**, San Francisco, v.11, n.4, p.1-16, e0153750. 2016. Doi: 10.1371/journal.pone.0153750
- ABASHT, B. et al. The metabolic characteristics of susceptibility to wooden breast disease in chickens with high feed efficiency. **Poultry Science**, Cary, v. 98, n. 8, p. 3246–3256, 2019. Doi: 10.3382/ps/pez183.
- BARBOSA, K.B.F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010. Doi: 10.1590/S1415-52732010000400013
- BAUERMEISTER, L. J. et al. Occurrence of White striping in chicken breast fillets in relation to broiler size. **Poultry Science**, Cary, v. 88 (Suppl 1):33 (Abstr.), 2009.
- BOERBOOM, G. et al. Unraveling the cause of white striping in broilers using metabolomics. **Poultry Science**, Cary, v. 97, n. 11, p. 3977–3986, 2018. Doi: 10.3382/ps/pey266.
- BRANCIARI, R. et al. Effect of genotype and rearing system on chicken behavior and muscle fiber characteristics. **Journal of Animal Science**, Cary, v. 87, n.12, p. 4109–4117, 2009. Doi: 10.2527/jas.2009-2090
- CARINI, M. et al. Acrolein-sequestering ability of endogenous dipeptides: characterization of carnosine and homocarnosine/acrolein adducts by electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, Hoboken, v. 38, n. 9, p. 996-1006, 2003. Doi: 10.1002/jms.517
- CARVALHO, V.H. et al. Exercise and β -alanine supplementation on carnosine-acrolein adduct in skeletal muscle. **Redox Biology**, Amsterdam, v. 18, p. 222-228, 2018. Doi: 10.1016/j.redox.2018.07.009.
- CASTRO BULLE, F.C.P. et al. Growth, carcass quality, and protein and energy metabolism in beef cattle with different growth potentials and residual feed intakes. **Journal of Animal Science**, Cary, v. 85, n. 4, p. 928–936, 2007. Doi: 10.2527/jas.2006-373
- CERIBELI, C. et al. Mate as Dietary Supplement for Broiler Chickens: Effect on the Metabolic Profile and Redox Chemistry of Meat. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 29, n.11, p. 2266-2277, 2018. Doi: 10.21577/0103-5053.20180103

CHEN, S.; BIRK, D.E. The regulatory roles of small leucine-rich proteoglycans in extracellular matrix assembly. **The Febs Journal**, Hoboken, v. 280, n. 10, p. 2120-2137, 2013. Doi: 10.1111/febs.12136

CHENOMX INC.; Chenomx NMR Suite 8.0 software; Chenomx Inc., Edmonton, Canadá.

CHIANG. Bile Acid Metabolism and Signaling. **Comprehensive Physiology**, Hoboken, v.3, n. 3, p.1191-1212, 2013. Doi: 10.1002/cphy.c120023

CLARK, D. L.; VELLEMAN, S. G. Spatial influence on breast muscle morphological structure, myofiber size, and gene expression associated with the wooden breast myopathy in broilers. **Poultry Science**, Cary, v. 95, n. 12, p. 2930–2945, 2016. Doi: 10.3382/ps/pew243.

COATES, L.; SULLIVAN, B. The macromolecular neutron diffractometer at the spallation neutron source. In: Moody, P.C.E. (Eds.). *Methods in Enzymology*, Academic Press, v. 634, Chapter 5, Pages 87-99, 2020. Doi: 10.1016/bs.mie.2019.11.020.

COBB 500TM. Suplemento de nutrição e desempenho do frango de corte. Arkansas: cobb-vantress, 2015. Disponível em: < <https://www.cobb-vantress.com/pt/academy/product-guides>>. Acesso: 09 nov. 2018.

COBB-VANTRESS. Manual de manejo de frangos de corte. Arkansas: cobb-vantress. 2014. Disponível em: < <https://www.cobb-vantress.com/pt/academy/management-guides>>. Acesso em: 09 nov. 2018.

CÔNSOLO, N.R.B. et al. Characterization of chicken muscle disorders through metabolomics, pathway analysis, and water relaxometry: a pilot study. **Poultry Science**, Cary, v. 99, n. 11, p. 6247-6257, 2020. Doi: 10.1016/j.psj.2020.06.066.

DENNERY, P.A. Oxidative stress in development: Nature or nurture? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 7, p. 1147–1151, 2010. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.07.011

DMITRY, P. Perspectives of pharmacological correction and evaluation of mitochondrial dysfunction in neurodegenerative and ischemic brain lesions. In: Atta-ur-Rahman (Eds). *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier, Chapter 2, vol. 69, Pag. 65-98, 2021. Doi: 10.1016/B978-0-12-819487-4.00018-5.

GUNEY, Y. et al. Carnosine may reduce lung injury caused by radiation therapy. **Medical Hypotheses**, Midlothian, v. 66, n. 5, Pag. 957-959, 2006. Doi: 10.1016/j.mehy.2005.11.023.

HANSON, R. R. et al. Oral treatment with a glucosamine-chondroitin sulfate compound for degenerative joint disease in horses: 25 cases. **Equine Practice**, Mission Viejo, v. 19, n.9, p.16–22, 1997.

HILL, C.A. et al. Influence of β -alanine supplementation on skeletal muscle carnosine concentrations and high intensity cycling capacity. **Amino Acids Journal**, Wien, v.32, n. 2, p. 225–233. Doi: 10.1007/s00726-006-0364-4

ISAC-GARCÍA, J. et al. Advanced Organic Synthesis Experiments. In: Isac-García, J.; Dobado, J.A.; Calvo-Flores, F.G.; Martínez-García, H. (Eds). **Experimental Organic**

Chemistry, Academic Press. Chapter 9, pag. 291-352, 2016. Doi: 10.1016/B978-0-12-803893-2.50009-7.

JESSEN, H. Taurine and beta-alanine transport in an established human kidney cell line derived from the proximal tubule. **Biochimica Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1194, n. 1, p. 44-52, 1994. Doi: 10.1016/0005-2736(94)90201-1

JIMÉNEZ, F.N.P. et al. Actividad biológica y toxicológica de los ácidos biliares en la actualidad. **Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas**, Habana, v. 39, n. 1, e260, p. 1-14, 2020.

JOLLIFFE, I. T.; *Principal Component Analysis*; Springer: New York, p. 115-128, 1986.

KOOMKRONG, N. et al. Breed-related number and size of muscle fibres and their response to carcass quality in chickens. **Italian Journal of Animal Science**, Oxon, v. 14, n. 4, p. 638–642, 2015. Doi: 10.4081/ijas.2015.4145

KUTTAPPAN, V. A. et al. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat varying degrees of white striping. **Poultry Science**, Cary, v. 91, n. 5, p.1240-1247, 2012a. Doi: 10.3382/ps.2011-01947.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Estimation of factors associated with the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, Cary, v.92, n.3, p. 811-819, 2013a. Doi: 10.3382/ps.2012-02506.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, Cary, v. 91, n. 10, p. 2677–2685, 2012b. Doi: 10.3382/ps.2012-02259.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. **Poultry Science**, Cary, v. 92, n. 2, p. 331–338, 2013b. Doi: 10.3382/ps.2012-02646

KUTTAPPAN, V.A. et al. Proteomic analysis reveals changes in carbohydrate and protein metabolism associated with broiler breast myopathy. **Poultry Science**, Cary, v. 96, n. 8, p.2992–2999, 2017. Doi: 10.3382/ps/pex069.

LAMÔNICA-GARCIA, V.C. et al. Níveis plasmáticos de taurina e de seus precursores em pacientes com câncer de esôfago. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v.45, n. 3, p.199-203, 2008. Doi:10.1590/S0004-28032008000300006

LI, M.H. et al. Metabolic profiling of goldfish (*Carassius auratus*) after long-term glyphosate-based herbicide exposure. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 188, p.159–169, 2017. Doi: 10.1016/j.aquatox.2017.05.004.

LIEBERMAN, M.A.; MARKS, A.D. *Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach*. 4 ed. Wolter Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. 2013. 1014 p.

MAIUOLO, J. et al. Regulation of uric acid metabolism and excretion. **International Journal of Cardiology**, Clare, v. 213, p. 8 -14, 2016. Doi: 10.1016/j.ijcard.2015.08.109

MARRO, P.J. et al. Purine metabolism and inhibition of xanthine oxidase in severely hypoxic neonates going onto extracorporeal membrane oxygenation. **Pediatric Research**, Findikzade, v. 41, n. 4-1, p.513–520, 1997. Doi: 10.1203/00006450-199704000-00010.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. Bioquímica básica. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 360 p.

MONTANARI, T. Histologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. 3.ed. Porto Alegre: Ed. da autora, 2016. 229 p. Disponível: <<http://www.ufrgs.br/livrodehisto> ISBN: 978-85-915646-3-7> Acesso: 12 jun.2021.

MUTRYN, M. F. et al. Characterization of novel chicken muscle disorder through differential gene expression and pathway analysis using RNA sequencing. **BMC Genomics**, London, v. 16, n. 399, p. 1-19, 2015. Doi: 10.1186/s12864-015-1623-0

NASSAN, F.L. et al. Metabolomic signatures of the short-term exposure to air pollution and temperature. **Environmental Research**, San Diego, v. 201, n. 111553, p. 1-14, 2021. Doi: 10.1016/j.envres.2021.111553.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica de lehninger. 6. ed Porto Alegre: Artmed, 2014. 1298 p.

PEREIRA, G.; MOTA, P.; LOUREIRO, J. Isquemia do miocárdio. In. Silva, J.A.M.; Saldanha, C. Seminários multidisciplinares de Bioquímica, Actas de bioquímica Av. Prof. Egas Moniz Lisboa: Editorial Office Instituto de Biopatologia Química, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Actas de Bioquímica, XVIII SEMINÁRIO, v. 8, p. 149-155, 2007. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10451/1119> acesso:30>Acesso: 30 jan 2021.

PETRACCI, M. et al. Ocurrence of White striping and its impact on breast meat quality in broiler chickens. **Poultry Science**, Cary, v.92, n. 6, p.1670-1675, 2013. Doi: 10.3382/ps.2012-03001

PETRACCI, M. et al. Wooden-Breast, White Striping, and Spaghetti Meat: causes, consequences and consumer perception of emerging broiler meat abnormalities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n.2, p. 565-583, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12431>

PYTHON Software Foundation; Python; Python Software Foundation, Beaverton, USA.

QUEIROZ, M. L. V. et al. Guia pratica para utilização de tabelas de entalpia. Núcleo de Estudos em Ambiente Agrícola e Bem-estar Animal (NEAMBE). 2012. Disponível em:<http://www.neambe.ufc.br/index_noticia_id_12>. Acesso em: 09 nov. 2018.

RAO, P.N. et al. Purine nucleoside phosphorylase: a new marker for free oxygen radical injury to the endotelial cell. **Hepatology**, Hoboken, v.11, n. 2, p.193-198, 1990. Doi: 10.1002/hep.1840110206.

REDMOND, H.P. et al. Immunonutrition: the role of taurine. **Nutrition**, New York, v. 14, n. 7-8, p. 599-604, 1998. Doi: 10.1016/S0899-9007(98)00097-5

REECE, W. O. Fisiologia dos Animais Domésticos. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 926 p.

RIISPOA- Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2017. 108 p.

RIVERA-PÉREZ, C. et al. Effect of hypoxia on purine metabolism in human skeletal muscle cells. **Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud**, Buenos Aires, v. 23, n. 2, p. 141-148, 2021. Doi: 10.18633/biotecnica.v23i2.1444

RODGERS, M.R. Effects of Oral Glucosamine and chondroitin sulfates supplementation on frequency of intraarticular therapy of the horse tarsus. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, Apopka, v.4, n. 2, p. 155- 162, 2006.

RONCA, F. et al. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate. **Osteoarthritis and Cartilage**, London, v. 6, p. 14-21, Suppl A, 1998. Doi: 10.1016/s1063-4584(98)80006-x.

RUSSO, E. et al. Evaluation of White Striping prevalence and predisposing factors in broilers at slaughter. **Poultry Science**, Cary, v. 94, n. 8, p. 1843–1848, 2015. Doi: 10.3382/ps/pev172.

SANTOS, A.A.; LIMA, J.M.C. Fisiologia Hepática, In: ORIÁ, R.B.; BRITO, G.A.C (Ed.). Sistema Digestório: Integração Básico-Clinica. São Paulo: Blucher, Cap. 21, p. 575 - 602. 2016. Doi: 10.5151/9788580391893-21

SCHULLER-LEVIS, G.B.; PARK, E. Taurine and Its Chloramine: Modulators of Immunity. **Neurochemical Research**, New York, v. 29, n. 1, p. 117–126, 2004. Doi: 10.1023/B:NERE.0000010440.37629.17

SHETEWY, A. et al. Mitochondrial defects associated with β -alanine toxicity: relevance to hyper-beta-alaninemia. **Molecular and Cellular Biochemistry**, Dordrecht, v. 416, n. 1-2, p. 11–22, 2016. Doi: 10.1007/s11010-016-2688-z

SIRRI, F. et al. Effect of different levels of dietary zinc, manganese, and copper from organic or inorganic sources on performance, bacterial chondronecrosis, intramuscular collagen characteristics, and occurrence of meat quality defects of broiler chickens. **Poultry Science**, Cary, v. 95, n. 8, p. 1813-1824, 2016. Doi: 10.3382/ps/pew064.

STAPLETON, P.P. et al. Review: Host Defense-A Role for the Amino Acid Taurine. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Hoboken, v. 22, n. 1, p. 42-48 1998. Doi: 10.1177/014860719802200142

SULIMAN, M.E. et al. Accumulation of taurine in patients with renal failure. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, v. 17, n. 3, p. 528–529, 2002. Doi: 10.1093/ndt/17.3.528

TIEDJE, K.E. et al. β -Alanine as a small molecule neurotransmitter. **Neurochemistry International**, Oxford, v. 57, n. 3, p. 177-188, 2010. Doi: 10.1016/j.neuint.2010.06.001.

VELLEMAN S. G. Relationship of Skeletal Muscle Development and Growth to Breast Muscle Myopathies: A Review. **Avian diseases**, Jacksonville, v. 59, n. 4, p.525–531, 2015.

VELLEMAN, S.G.; CLARK, D.L. Histopathologic and Myogenic Gene Expression Changes Associated with Wooden Breast in Broiler Breast Muscles. **Avian Diseases**, Jacksonville, v. 59, n.3, p. 410–418, 2015. Doi: 10.1637/11097-042015-Reg.1

VERDIGLIONE, R.; CASSANDRO, M. Characterization of muscle fiber type in the pectoralis major muscle of slow-growing local and commercial chicken strains. **Poultry Science**, Cary, v. 92, n.9, p. 2433–2437, 2013. Doi: 10.3382/ps.2013-03013.

WEST, J.D.; MARNETT, L.J. Endogenous reactive intermediates as modulators of cell signaling and cell death. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, v. 19, n. 2, p. 173-194, 2006. Doi: 10.1021/tx050321u

XIA, J. et al. MetaboAnalyst: a web sever for metabolomics data analysis and interpretation. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.37, p. 652-660, 2009. Doi: 10.1093/nar/gkp356

YEUM, K.J. et al. Profiling histidine dipeptides in plasma and urine after ingesting beef, chicken or chicken broth in humans. **Amino Acids**, Wien, v. 38, n.3, p. 847-858, 2010. Doi: 10.1007/s00726-009-0291-2

ZEB, A. et al. Neuroprotective effects of carnosine-loaded elastic liposomes in cerebral ischemia rat model. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, Seoul, v. 50, p.373–381, 2020. Doi: 10.1007/s40005-019-00462-y

ZUIDHOF, M.J. et al. Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. **Poultry Science**, Cary, v. 93, n. 12, p.2970–2982, 2014. Doi: 10.3382/ps.2014-04291

CONCLUSÃO GERAL

Suplementar frangos de corte com SC e Mn reflete de forma positiva com melhoras no desempenho na fase de crescimento, sendo mais evidente até os 28 dias. Assim como a suplementação de SC e Mn possivelmente auxiliam o desenvolvimento do tecido conjuntivo permitindo menor estresse oxidativo, reduz a degeneração da fibra muscular e tecido ósseo, visto que interagem com o tamanho de estrias na miopatia *white striping*, no rendimento de peito e asa, melhora a composição da gordura da carne de peito, proporciona uma redução no índice trombogênico e aumenta a qualidade dos tibiotarsos, principalmente nos atributos morfológicos, teor de cálcio e resistência à quebra.

Por fim, adicionar SC e Mn na dieta de frangos de corte possivelmente contribuíram para a redução do estresse metabólico do músculo peitoral, interagindo com as vias metabólicas associadas com taurina, alanina, β -alanina e ATP.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A interação do sulfato de condroitina e o nível de 40 mg/kg de Mn no desenvolvimento das aves promoveu o aumento no conteúdo ósseo dos minerais como cálcio e aumentos nos atributos morfológicos, indicando processos de ossificação endocondral não afetado, refletindo na prevenção de distúrbios ósseos dos frangos de corte, que conseqüentemente, estimularam o crescimento das aves permitindo altos ganhos e aumentou a viabilidade do lote, visto que houve diminuição da mortalidade.

Os níveis de 80 mg/kg Mn na dieta de frangos de corte precisam ser usados com cuidado porque o Mn em excesso pode competir com o Ca e o P pelos mesmos locais de absorção, tendo como resultado um antagonismo que reflete em deficiências na mineralização óssea diminuindo a resistência dos ossos. De igual forma, dependendo das suas combinações com SC pode melhorar o rendimento de peito, asa e tamanho de estrias na miopatia *white striping*. No entanto, este nível pode piorar a conversão alimentar nas fases finais de crescimento das aves, aumentar o pH e alterar o perfil de ácidos graxos da carne de peito de frangos de corte.

Peitos de frangos com o sem suplementação de SC e Mn apresentaram miopatia *white striping* moderada e interações no metabolismo das pirimidinas, propanoato, purinas, taurina e hipotaurina. No entanto, os resultados da suplementação sobre as concentrações de metabolitos como taurina, alanina, β -alanina e ATP determina a resposta do sulfato de condroitina na proteção da matriz extracelular (MEC) possivelmente porque estava em níveis disponíveis no músculo para sua associação com os proteoglicanos na MEC para influenciar os comportamentos celulares, proteger a membrana basal e extracelular, assim como facilitar o transporte de cátions para evitar lesão celular, derivada da hipóxia e estresse oxidativo característico da condição miopática. De igual forma o manganês presente na dieta, possivelmente participou no sistema de defesa enzimático das células musculares, prevenindo a disfunção mitocondrial ao mitigar as espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio, assim como talvez auxiliou no controle da geração de radicais livres produzidos em decorrência do acúmulo de lactato, NADH e hidrogênio ou pelo acúmulo de bases púricas como adenosina, inosina, hipoxantina, xantina e ácido úrico derivados do catabolismo de ATP (marcadores de hipóxia tecidual) características associadas ao músculo peitoral de frangos de corte abundante em fibras tipo II e acometido com a miopatia WS como apresentado neste estudo.