

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

AMANDA PLAÇA BIALLI

IMPACTO FISIOLÓGICO E ZOOTÉCNICO DA SUPLEMENTAÇÃO DE
LIPASE EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE DE 0 A 21 DIAS DE IDADE

CURITIBA

2018

AMANDA PLAÇA BIALLI

IMPACTO FISIOLÓGICO E ZOOTÉCNICO DA SUPLEMENTAÇÃO DE
LIPASE EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE DE 0 A 21 DIAS DE IDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisiologia, área de concentração em Fisiologia Animal Comparativa e dos Animais Domésticos, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Fisiologia.

Orientadora: Prof. Dra. Ana Vitória Fischer da Silva.

CURITIBA

2018

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.
Biblioteca de Ciências Biológicas.
(Marcia Andreiko –CRB/9-1582)

Bialli, Amanda Praça

Impacto fisiológico e zootécnico da suplementação de lipase em dietas de frangos de corte. / Amanda Praça Bialli. – Curitiba, 2018.
62 p.: il. ; 30cm.

Orientadora: Ana Vitória Fischer da Silva

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia.

1. Enzimas. 2. Fisiologia animal. 3. Frango de corte. 4. Lipase. I. Título.
II. Silva, Ana Vitória Fischer da. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia.

CDD (20. ed.) 591.1



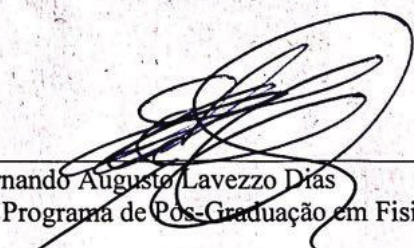
Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia



DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que **AMANDA PLAÇA BIALLI** no dia 18 de junho de dois mil e dezoito, no Setor de Ciências Biológicas (UFPR) defendeu sua Dissertação de Mestrado em Fisiologia, intitulada: "**IMPACTOS FISIOLÓGICOS E ZOOTÉCNICOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE LIPASE EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE DE 0 A 21 DIAS DE IDADE**", com a banca examinadora foi constituída pelos professores: Professora Doutora Viviane Prodocimo (Universidade Federal do Paraná - UFPR), Professora Doutora Chayane da Rocha (Universidade Federal do Paraná - UFPR), e Professora Doutora Ana Vitória Fischer da Silva (Universidade Federal do Paraná - UFPR), como orientadora e presidente da Banca Examinadora, tendo sido **Aprovada**, sendo que a emissão do diploma da mesma ficará condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Art. 59º do Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação. Esta Declaração tem validade por 60(sessenta) dias, a partir da data de emissão da mesma.

Curitiba, 18 de junho de 2018.


Fernando Augusto Lavezzo Dias
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia

Prof^º. Dr^º. Fernando A. Lavezzo Dias
Matrícula UFPR - 203554
Coordenador Pós-Graduação em Fisiologia / BL

Dedico à minha família.

Que sempre se manteve ao meu lado,
me dando suporte e amor incondicional,
todos os momentos de minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial a minha orientadora Profa. Dra. Ana Vitória Fischer da Silva e ao Prof. Dr. Sebastião Aparecido Borges pela confiança, amizade e carinho desde o início da graduação.

A Profa. Dra. Márcia Helena Appel, Profa. Dra. Fabíola Iagher, e Prof. Dr. Luiz Claudio Fernandes por todo apoio e suporte na utilização do Laboratório de Metabolismo.

Ao Prof. Dr. Alex Maiorka, Profa. Dra. Simone Gisele de Oliveira, e Profa. Dra. Ananda Portela Felix por todo conhecimento transmitido ao longo dos anos e suporte na fase experimental.

A todos os colegas da Pós que dividiram muitos momentos comigo. Em especial Glaucio da Silva Dias por toda ajuda no Laboratório de Química.

Ao Bioquímico Olair Beltrame pelo auxílio e cordialidade no Laboratório de Patologia Clínica.

Aos amigos Suelen Baal, Felipe Silva e Sthéfanie Dassi por toda colaboração na fase experimental e por terem sido “meu braço direito” ao longo da pesquisa.

Ao Thiago Ribeiro pelo suporte técnico, auxílio e dedicação no experimento *in vivo*.

A Tarcila e ao Angelo pela imensa ajuda nos dias de coleta de material biológico.

Aos demais orientados da Profa. Dra. Ana Vitória: Tiago dos Santos, Mariana Scheraiber e Janaína de Oliveira. Obrigada pela amizade, de coração.

A empresa TECTRON pelo apoio financeiro e pelo suporte na condução dos experimentos.

Ao Programa de Pós Graduação em Fisiologia e a CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma me ajudaram e apoiaram!

RESUMO

Devido à característica de crescimento rápido, as linhagens de frangos de corte apresentam uma elevada demanda energética, o que favorece a utilização de óleos e gorduras na ração, por serem ingredientes com alta concentração calórica. O uso de produtos para favorecer a emulsificação, digestão e absorção de tais óleos tem sido justificado principalmente em aves jovens, pois, estas possuem dificuldade em digerir a gordura da dieta devido à reduzida produção da enzima lipase e a imaturidade da circulação entero-hepática. Foram realizados dois ensaios para avaliação do potencial enzimático da lipase exógena, um ensaio *in vitro* e um ensaio *in vivo*. O teste *in vitro* foi realizado através da análise da atividade enzimática por meio da dosagem de hidrólise da lipase, proveniente de microrganismos do gênero *Aspergillus sp*, pelo método de pHStat. Para o ensaio *in vivo*, 1080 pintos de corte machos de 1 dia, da linhagem comercial Cobb®, foram distribuídos em 09 tratamentos, com 8 repetições de 15 aves cada em um delineamento inteiramente ao acaso, arranjados em fatorial $4 \times 2 + 1$. Os tratamentos avaliados foram nove rações, sendo uma ração referência e oito rações compostas por 93% da fórmula referência e 7% de inclusão de óleo de soja, óleo ácido, gordura de aves ou sebo bovino, com e sem adição de lipase, na dose de 200g por tonelada. Semanalmente foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho zootécnico: consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e mortalidade das aves. Em paralelo ao teste *in vivo*, foi avaliada a digestibilidade das respectivas gorduras pelo método de coleta total de fezes. Além disso, foi realizada a pesagem de órgãos e coleta de sangue para análise bioquímica e atividade enzimática da lipase. O sebo bovino apresentou a maior atividade lipolítica *in vitro* enquanto o óleo ácido apresentou ausência de atividade ($p < 0,05$). *In vivo* não houve efeito da lipase sobre a digestibilidade da gordura, entretanto as aves que receberam a suplementação apresentaram o maior ganho de peso ($p < 0,05$) sem interferência da lipase exógena sobre parâmetros bioquímicos e morfométricos. Além disso, foi observado aumento da concentração sérica de lipase de acordo com a curva de crescimento da ave ($p < 0,05$). Conclui-se que a suplementação de lipase exógena produzida por microrganismos do gênero *Aspergillus sp* melhora o desenvolvimento e crescimento de frangos na fase inicial.

Palavras-chave: Desempenho. Digestibilidade. Enzima exógena. Gordura. Perfil lipídico sérico. Suplementação.

ABSTRACT

Due to the characteristic of fast growth, broiler chickens have a high energy demand, which favors the use of oils and fats in the feed, since they are ingredients with high caloric concentration. The use of products to favor the emulsification and absorption of such oils has been justified mainly in young birds, once they have difficulty metabolizing fat dietary because their reduced production of lipase enzyme and their immature enterohepatic circulation. Two tests were carried out to evaluate the enzymatic potential of the exogenous lipase, an *in vitro* assay and an *in vivo* assay. The *in vitro* test was carried out by analyzing the enzymatic activity by dosing the hydrolysis of the lipase produced by microorganisms of the genus *Aspergillus sp* using the pHStat method. For the *in vivo test*, 1080 1-day male Cobb commercial strain broiler chicken were distributed in 9 treatments, with 8 replicates of 15 birds each in a completely randomized design arranged in a 4 x 2 + 1 factorial. Out of nine feed used, one was the reference feed and eight were composed of 93% of the reference formula and 7% of soybean oil, acid oil, poultry fat or bovine tallow, with and without lipase addition, at a dose of 200g per ton. The parameters of zootechnical performance weekly evaluated were: feed intake, weight gain, feed conversion and bird mortality. Besides the *in vivo test*, the digestibility of the respective fats was evaluated by the total fecal collection method. Also, organ weighing and blood collection were performed for biochemical and lipase enzymatic activity analysis. The bovine tallow had the highest lipolytic activity *in vitro* while the acidic oil showed no activity ($p < 0.05$). *In vivo* the enzyme did not improve fat digestibility, however, the chicks that received the supplementation presented the highest weight gain ($p < 0.05$) without interference of the exogenous lipase on biochemical and morphometric parameters. In addition, an increase in serum lipase concentration was observed according to the growth curve of the birds ($p < 0.05$). It is concluded that the supplementation of exogenous lipase produced by microorganisms of the genus *Aspergillus sp* improves the development and growth of chickens in the initial phase

Keywords: Digestibility, Exogenous enzyme, Fat, Performance, Serum lipid profile, Supplementation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ANATOMIA DO TRATO GASTROINTESTINAL DAS AVES	14
FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS LIPÍDEOS COMUNS.	18
FIGURA 3 - PROCESSO DE EMULSIFICAÇÃO E HIDRÓLISE DOS LIPÍDEOS NO DUODENO DAS AVES.....	20
FIGURA 4 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA IN VITRO DA ENZIMA LIPASE NOS DIFERENTES TIPOS DE ÓLEO.....	40
FIGURA 5 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE LIPASE DE 1 A 21 DIAS DE IDADE INDEPENDENTE DO TRATAMENTO.	47

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DESIGNAÇÃO BIOQUÍMICA DOS PRINCIPAIS ÁCIDOS GRAXOS.....	17
TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO GORDURA DE AVES, ÓLEO DE SOJA , ÓLEO ÁCIDO E SEBO BOVINO.....	24
TABELA 3 - APLICAÇÃO INDUSTRIAL DE LIPASES MICROBIANAS.....	30
TABELA 4 - DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS NO PERÍODO DE ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE.....	34
TABELA 5 - INGREDIENTES E COMPOSIÇÃO QUÍMICA ANALISADA DA DIETA REFERÊNCIA.....	35
TABELA 6 - INGREDIENTES E COMPOSIÇÃO QUÍMICA ANALISADA NAS DIETAS EXPERIMENTAIS.	38
TABELA 7 - DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS NO PERÍODO DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO.....	39
TABELA 8 - COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DA MATÉRIA SECA, PROTEÍNA BRUTA, EXTRATO ETÉREO E ENERGIA METABOLIZÁVEL DAS DIETAS COM OU SEM ADIÇÃO DE LIPASE PARA FRANGOS DE CORTE DE 4 A 8 DIAS DE IDADE.....	42
TABELA 9 - EFEITO DO USO DAS FONTES LIPÍDICAS E LIPASE SOBRE O PESO DE ÓRGÃOS DE FRANGOS DE CORTE AOS 7, 14 E 21 DIAS DE IDADE	44
TABELA 10 - EFEITO DO USO DAS FONTES LIPÍDICAS E LIPASE SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE TRIGLICERÍDEOS, COLESTEROL TOTAL, HDL E LDL AOS 7, 14 E 21 DIAS DE IDADE	46
TABELA 11 - EFEITO DO USO DAS FONTES LIPÍDICAS E LIPASE EXÓGENA SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE LIPASE DE 7 A 21 DIAS DE IDADE	49
TABELA 12 - EFEITO DO USO DAS FONTES LIPÍDICAS E LIPASE SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE AOS 14 E 21 DIAS DE IDADE...	50

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

% - porcentagem

AGL – ácidos graxos livres

AOAC - Association of the Official Analytical Chemists

CA – conversão alimentar

CDA – coeficiente de digestibilidade aparente

CDEE – coeficiente de digestibilidade do estrato etéreo

CDMS – coeficiente de digestibilidade da matéria seca

CDPB – coeficiente de digestibilidade da proteína bruta

CR – consumo de ração

EM – energia metabolizável

FABP – proteína ligadora de ácidos graxos

g – gramas

GA – gordura de aves

GP – ganho de peso

HDL – lipoproteína de alta densidade

kcal – quilocalorias

kg – quilos

L - litro

LDL – lipoproteína de baixa densidade

mmol - milimol

MS – matéria seca

NRC – National Research Council

OA – óleo ácido de soja

OS – óleo de soja

pH – potencial hidrogênio

SB – sebo bovino

TGI – trato gastrointestinal

ton – tonelada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO TGI DAS AVES	14
2.2 LIPÍDEOS	16
2.2.1 IMPORTÂNCIA E CLASSIFICAÇÃO	16
2.2.2 DIGESTÃO E ABSORÇÃO DE LIPÍDEOS	19
2.2.3 FONTES LIPÍDICAS NA PRODUÇÃO AVIÁRIA	22
2.3 FATORES QUE AFETAM A DIGESTÃO DE LIPÍDEOS NAS AVES	24
2.3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS ÁCIDOS GRAXOS	25
2.3.2 IDADE DA AVE E A PRODUÇÃO DE BILE	25
2.4 EMULSIFICANTES	26
2.5 ENZIMAS	27
2.5.1 LIPASE	28
3 OBJETIVOS	31
3.1 GERAL	31
3.2 ESPECÍFICOS	31
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 ENSAIO ENZIMÁTICO <i>IN VITRO</i>	32
4.2 EXPERIMENTO I - ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE	33
4.3 PERFIL LIPÍDICO E ANÁLISE ENZIMÁTICA	36
4.4 EXPERIMENTO II – DESEMPENHO ZOOTÉCNICO	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 ANÁLISE ENZIMÁTICA <i>IN VITRO</i>	40
5.2 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE	41
5.3 PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS E FISIOLÓGICOS	43
5.4 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO	49
6 CONCLUSÃO	52
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	62

1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos a produção animal tem apresentado um crescimento bastante expressivo no mercado brasileiro, com destaque para a avicultura de corte. Este crescimento pode ser atribuído à busca por maior produtividade vinculada ao menor custo de produção. Com o intuito de melhorar os índices produtivos, os profissionais da avicultura têm investido em programas de melhoramento genético e práticas de manejo sanitário, e nutricional.

Avanços no conhecimento de fisiologia digestiva no que diz respeito à capacidade funcional e desenvolvimento do trato gastrointestinal (TGI) buscam na nutrição fatores que possam auxiliar o crescimento e melhorar a eficiência produtiva, visando à redução dos custos da produção (OLIVEIRA, 2009).

Devido ao melhoramento genético pelo qual as aves têm passado ao longo dos últimos 30 anos, as principais linhagens de frangos de corte apresentam uma elevada demanda energética, decorrente do seu rápido desenvolvimento. Sendo assim, é favorável a utilização de gorduras e óleos na ração destes animais, os quais fornecem grande parte do aparato calórico necessário para seu crescimento, manutenção e produção (FURLAN & MACARI, 2002).

Lipídeos, considerados nutrientes de extrema importância na dieta de aves e mamíferos, possuem duas características importantes, tais como: insolubilidade em água e solubilidade em solventes não polares (éter, clorofórmio e benzeno). Sendo assim, atuam como veículo para vitaminas lipossolúveis e são fontes de ácidos graxos poli-insaturados essenciais (ácido linoleico), que o organismo é incapaz de sintetizar. Além disso, os fosfolipídeos, grupo especial de lipídeos, são fundamentais para a formação de membranas biológicas e participam de inúmeros processos orgânicos e metabólicos do organismo animal.

A digestão e absorção de lipídeos em pintos recém-eclodidos é um assunto amplamente discutido na literatura. De maneira geral, a eficiência na digestão e absorção de lipídeos presentes na dieta aumenta com a idade da ave, sendo que o fator fisiológico limitante no período pós-eclosão está relacionado à imaturidade da circulação entero-hepática. Isso gera uma

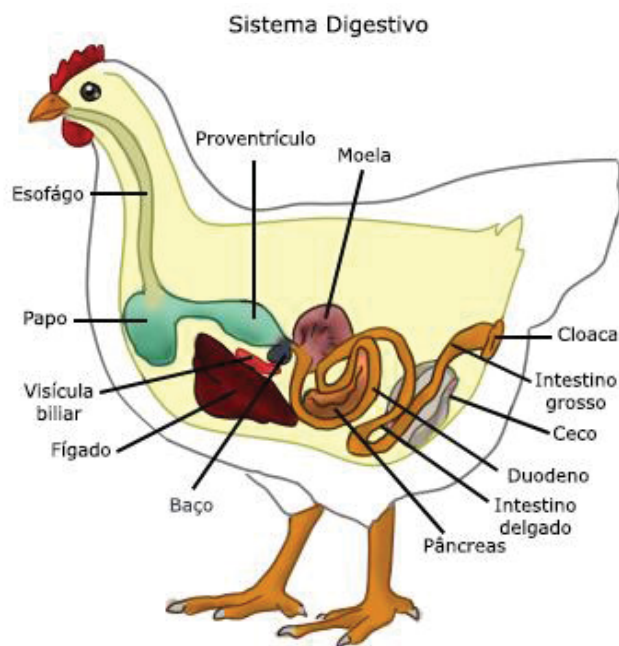
insuficiente reabsorção e secreção de sais biliares associado a uma menor atividade enzimática da lipase, que se torna até seis vezes maior aos 10 dias de vida quando comparado ao momento da eclosão (ROCHA; MAIORKA, 2017).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO TRATO GASTROINTESTINAL DAS AVES

O TGI das aves possui algumas peculiaridades anatômicas e fisiológicas. A anatomia do canal alimentar das aves modificou-se ao longo da evolução para adaptar-se ao vôo e ao seu hábito alimentar (Figura 1). Dentre tais modificações tem-se a ausência de dentes e reduzida musculatura mandibular (DUKES, 2006).

FIGURA 1 - ANATOMIA DO TRATO GASTROINTESTINAL DAS AVES



FONTE: ADAPTADO DE POULTRYHUB.

De modo geral o tamanho do TGI em relação ao peso corporal é menor em aves do que em mamíferos. Todavia, esse fato é compensado pela alta taxa de secreção gástrica, maior vascularização e acidificação do trato e pelo peristaltismo reverso o que propicia uma maior taxa de passagem em comparação aos mamíferos (DHARME, 2007).

Segundo Svihus et al. (2014), no que diz respeito a aves de criação (para produção de carne ou ovos), a adaptação do TGI desses animais ocorreu

na tentativa de suportar a criação em sistemas intensivos. O autor explica que um frango macho de 30 dias de idade consome aproximadamente 10% do seu peso corporal em ração por dia, ou seja, seu TGI pode ser capaz de metabolizar em torno de 7 gramas de ração por hora. Isso equivale a uma pessoa de 75 quilos (kg) ingerindo mais de 450 gramas (g) de alimento por hora durante 16 horas seguidas.

Como representado na (Figura 2), o TGI das aves se inicia pelo bico, desprovido de lábios e dentes, é uma estrutura rígida queratinizada, ao qual é utilizado para fazer a apreensão do alimento. Há presença de glândulas salivares e papilas gustativas, o esôfago possui uma dilatação denominada inglúvio ou papo, no qual sua entrada é controlada por um músculo esfíncter (DUKES, 2006). Entretanto nem sempre o alimento fica armazenado no papo da ave, em algumas situações a ingesta pode se deslocar diretamente para o proventrículo (compartimento químico) e moela (compartimento mecânico), e quando estes já estiverem repletos, o alimento tende a ficar estocado no papo para posterior hidrólise. Em suma, o papo das aves não possui papel nutricional direto, pois não secreta enzimas nem absorve nutrientes em quantidades consideráveis, entretanto possui maior quantidade de muco quando comparado ao bico. Essa estrutura basicamente possui como função a estocagem de alimento para posterior digestão (SVIHUS, 2014).

Em mamíferos, a ação mecânica e digestão enzimática do alimento iniciam-se na boca, enquanto nas aves essas reações iniciam-se no estômago. Este é dividido em duas câmaras morfológicas e funcionalmente distintas: a glandular (proventrículo) que secreta enzimas e ácido clorídrico dando início ao processo de digestão química do bolo alimentar; e a muscular (ventrículo ou moela), responsável por macerar o alimento e misturá-lo com as secreções do estômago glandular (ROCHA e MAIORKA, 2017).

O próximo segmento do TGI das aves (intestino delgado ou médio) é o responsável por dar continuidade aos processos digestivos do quimo e absorção dos nutrientes. Diferenças estruturais e funcionais dividem o intestino médio em três regiões: duodeno, jejuno e íleo (ROCHA e MAIORKA, 2017).

O duodeno termina com a abertura dos ductos pancreáticos e biliares na região descendente, onde o conteúdo ácido do proventrículo se mistura com os sucos provenientes desses ductos por meio de movimento peristálticos, que

culminam num pH 6,0 dando início aos processos de digestão. O jejuno, segmento seguinte ao duodeno, possui papel chave no processo de digestão e absorção dos nutrientes devido ao seu comprimento e ao tempo que a digesta permanece em seu interior (40 a 60 minutos). Sendo assim, grande parte da gordura, proteína e amido da dieta são absorvidos no seu terço final. O próximo segmento, íleo, apesar de ter tamanho semelhante ao jejuno, possui como papel principal a absorção de água e sais minerais. (SVIHUS, 2014).

Sivihus (2014) ainda comenta sobre o intestino posterior, conhecido como intestino grosso, no qual é formado pelos cecos duplos e cólon. Como observado por Dukes (2006), os cecos esvaziam-se duas vezes por dia em média, tendo, portanto, um longo tempo de retenção da digesta nesse segmento. Uma das principais funções dos cecos é a absorção de água e eletrólitos, juntamente com reabsorção de partículas de origem renal.

Como órgãos anexos ao TGI, as aves possuem o fígado, o pâncreas e a vesícula biliar. O fígado realiza funções importantes como síntese de proteínas plasmáticas e hormônios, metabolismo de carboidratos e lipídeos, desintoxicação e secreção de ácidos biliares. Da vesícula biliar parte o ducto biliar, carreando os sais produzidos pelo fígado (bile), que desemboca no duodeno. O pâncreas é uma glândula mista, ou seja, exócrina e endócrina. A porção exócrina é composta por células acinares que secretam suco contendo enzimas e ductos que secretam água e bicarbonato para o interior do duodeno, auxiliando no processo de digestão e absorção de nutrientes. Já a porção endócrina (ilhotas de Langerhans) responde pela secreção de hormônios (insulina, glucagon e somatostatina) que regulam o metabolismo glicêmico (ROCHA e MAIORKA, 2017).

2.2 LIPÍDEOS

2.2.1 IMPORTÂNCIA E CLASSIFICAÇÃO

Os lipídeos são moléculas hidrofóbicas insolúveis ou pouco solúveis em água. São encontrados nas membranas plasmáticas, mantendo sua integridade celular e permitindo a compartimentalização do citoplasma em

organelas específicas. Além disso, os lipídeos atuam como uma importante reserva de nutrientes (triglicerídeos), como precursor de esteroides adrenais, gonadais e sais biliares (colesterol), e também servem como mensageiros intra e extracelulares, como a prostaglandina (LARSEN et al, 2010). Além da prostaglandina, os lipídeos também são precursores de leucotrienos e tromboxanos, assim como, são fontes de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis: A, D, E e K (ROCHA e MAIORKA, 2017).

Os lipídeos são subdivididos em ácidos graxos, triglicerídeos, colesterol e fosfolipídeos, de acordo com sua natureza e função. Os ácidos graxos variam no comprimento da cadeia, na presença, ausência ou na posição da dupla ligação. Ácidos graxos saturados não possuem duplas ligações, todos seus carbonos são completamente saturados por hidrogênio, enquanto os ácidos graxos insaturados possuem duplas ligações, sendo que os monoinsaturados possuem apenas uma dupla ligação e os polinsaturados (PUFAs) possuem duas ou mais (NELSON e COX, 2014). Na (Tabela 1) estão listados os principais ácidos graxos e suas respectivas composições químicas.

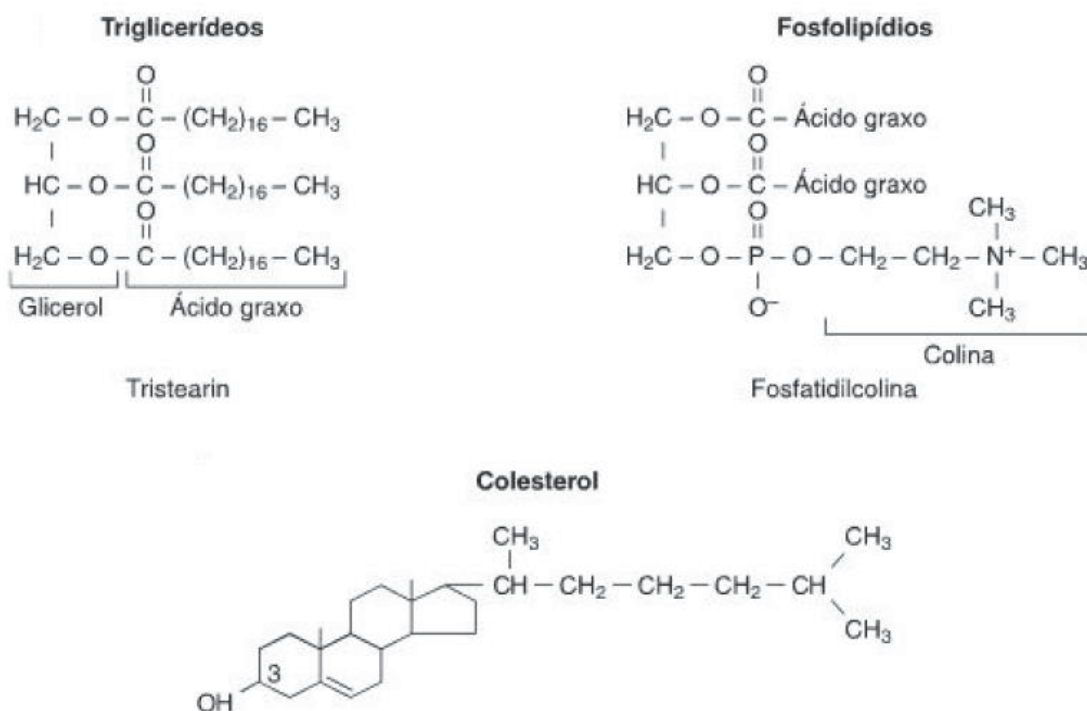
TABELA 1 - DESIGNAÇÃO BIOQUÍMICA DOS PRINCIPAIS ÁCIDOS GRAXOS

Designação química*	Nomenclatura comum
Ácidos graxos saturados (sem dupla ligação)	
C12:0	Láurico
C14:0	Mirístico
C16:0	Palmítico
C18:0	Esteárico
Ácidos graxos monoinsaturados (uma dupla ligação)	
C18:1 Δ^9	Oleico
Ácidos graxos polinsaturados (duas ou mais ligações)	
Ácidos graxos ômega 6	
C18: 2 ω 6 Δ^9, Δ^{12}	Linoleico
C20: 4 ω 6 $\Delta^5, \Delta^{18}, \Delta^{11}, \Delta^{14}$	Aracdônico
Ácidos graxos ômega 3	
C18: 3 ω 3	α -linolênico
C20: 5 ω 3	Elicosapentaenoico (EPA)
C22: 6 ω 3	Decosa-hexanoico (DHA)

*O número após o C indica o número de átomos de carbono; o numeral após os dois pontos indica o número de duplas ligações. O átomo de carbono número 1 é o carbono do ácido carboxílico e o átomo de carbono ω é o átomo mais distante do grupamento carboxila. A colocação das duplas ligações é mostrada pelas designações Δ (por exemplo: Δ^9 indica uma dupla ligação entre os carbonos 9 e 10). Nos ácidos graxos ômega 6 a primeira dupla ligação ocorre 6 átomos de carbonos após o carbono ω (indicado por ω 6) e nos ácidos graxos ômega 3, ela ocorre após o terceiro átomo de carbono após o átomo de carbono ω (ω 3). FONTE: LARSEN (2010).

O colesterol é um hidrocarboneto com quatro anéis e uma cadeia lateral com oito carbonos, é um dos principais componentes das membranas celulares, precursor de hormônios esteroides e de sais biliares. Os triglicerídeos são compostos por três moléculas de ácidos graxos esterificados com uma molécula de glicerol. Eles dão origem aos ácidos graxos e formam gotículas de gordura no tecido adiposo, além disso, quando são hidrolisados liberam partículas de ácidos graxos livres (AGL) que são utilizadas como fonte de energia. Por fim, os fosfolipídeos são ácidos graxos esterificados em dois dos grupamentos hidroxilas do glicerol, tendo grande importância para a formação da fosfatidilcolina (também conhecida como lecitina). Dentre os complexos lipídicos esses são os mais hidrofóbicos, tendo um papel fundamental nas superfícies de revestimento de lipoproteínas (NELSON, 2014). As estruturas químicas dos lipídeos descritos acima estão demonstradas na (Figura 2).

FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS LIPÍDEOS COMUNS.FONTE: LARSEN (2010).



Nutricionalmente falando, os triglicerídeos representam cerca de 90% do conteúdo total de lipídeos alimentares. Normalmente fontes de origem vegetal apresentam maior quantidade de ácidos graxos insaturados, enquanto

fontes de origem animal são constituídas majoritariamente por ácidos graxos saturados. Na nutrição animal, óleos e gorduras (como são denominados os lipídeos) são adicionados à dieta com o intuito de fornecer uma fonte concentrada de energia, pois apresenta alta densidade energética quando comparados a outros compostos, como carboidratos, por exemplo. Essas fontes são constituídas basicamente por triglicerídeos, fosfolipídeos e colesterol (ROCHA e MAIORKA, 2017).

2.2.2 DIGESTÃO E ABSORÇÃO DE LIPÍDEOS

Na maioria dos mamíferos a digestão dos lipídeos da dieta se inicia no estômago, pela ação da lipase lingual e gástrica, e é finalizada no intestino delgado, local onde há ação das enzimas pancreáticas (lipase), da hidrolase dos ésteres do colesterol e da fosfolipase A₂ (COSTANZO, 2014). Entretanto, segundo Rocha e Maiorka (2017), não há relatos da atividade de lipases pré-duodenais em aves, sendo a digestão gástrica dos lipídeos iniciada por processos não enzimáticos.

Os lipídeos de importância nutricional são compostos por cerca de 90% de triglicerídeos, os quais são hidrolisados no lúmen intestinal por ação das lipases pancreáticas, resultando em glicerol, ácidos graxos livres e monoglicerídeos (MACARI et al., 2002). Na moela, os lipídeos são mecanicamente triturados e misturados às secreções gástricas, transformando-se em uma fina emulsão. Processo de extrema importância para o aumento da interface disponível para a futura ação enzimática do pâncreas no lúmen intestinal (RAVINDRAN et al., 2016).

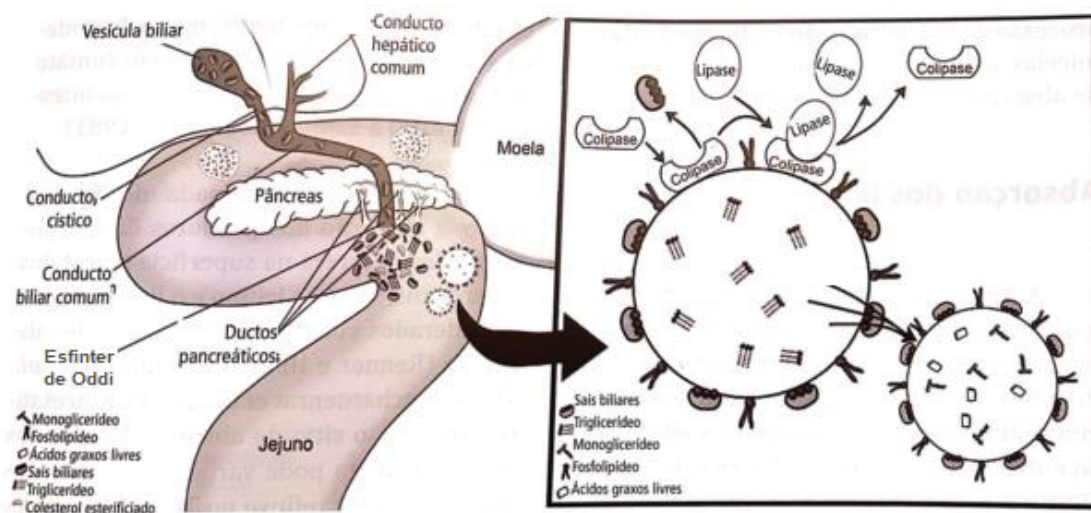
Ainda que parte da fração lipídica seja parcialmente digerida no estômago das aves, a digestão significativa dos lipídeos ocorre no intestino delgado, e envolve dois pontos importantes: presença do suco biliar e de enzimas lipolíticas. Entretanto, o lúmen intestinal é um ambiente aquoso, e para que haja a digestão dos lipídeos é necessária a formação de uma interface água/lipídeo, ou seja, a bile, com sua ação detergente, solubiliza os componentes lipídicos no lúmen intestinal, para que esses fiquem disponíveis para o início da digestão. Este processo é denominado de emulsificação (ROCHA e MAIORKA, 2017).

A bile, produzida no fígado e armazenada na vesícula biliar, possui a função de emulsificar os lipídeos, aumentando a superfície dos mesmos com a formação de microgotículas de gordura. Segundo Freeman (1984), este processo tem por propósito expor uma maior superfície para a ação da lipase pancreática na interface óleo-água. De acordo com o autor, a lipólise é um processo diretamente relacionado com a área de superfície exposta do substrato à enzima.

A lipase pancreática é a principal enzima responsável pela hidrólise dos triglicerídeos, porém, para que consiga atuar nas moléculas de gorduras sem que sofra desnaturação ou inibição pelos sais biliares, esta enzima necessita do auxílio da colipase, que também é secretada pelo pâncreas. A colipase atua removendo os sais biliares da superfície das gotículas de gordura. Em seguida a lipase se liga a esta, formando um complexo denominado lipase-colipase (DRACKLEY, 2000).

Conforme exposto na (Figura 3), uma vez aderida ao substrato, a lipase pancreática hidrolisa a ligação éster entre o glicerol e os ácidos graxos. Após a hidrólise, são liberados dois AGL e um monoglicerídeo + um AGL esterificado (KERR et al., 2015).

FIGURA 3 - PROCESSO DE EMULSIFICAÇÃO E HIDRÓLISE DOS LIPÍDEOS NO DUODENO DAS AVES.



FONTE: ADAPTADO DE ROCHA e MAIORKA (2017).

As micelas são gotículas de gordura formadas no quimo intestinal cuja composição é de lipídeos, sais biliares e produtos da digestão lipídica. Tornam-

se constituintes gordurosos solúveis que são capazes de movimentar-se no ambiente intestinal aquoso, apresentando a parte polar dos sais biliares conjugados na superfície, enquanto a parte apolar ocupa a porção central da micela (MACARI et al. 2002).

As micelas então são conduzidas até as microvilosidades intestinais por movimentos peristálticos e liberam monoglicerídeos, ácidos graxos, colesterol e vitaminas lipossolúveis para o interior dos enterócitos através da atuação da proteína ligadora de ácidos graxos (FABP), a qual é responsável pelo transporte dos ácidos graxos das microvilosidades para o citosol dos enterócitos. Na célula da mucosa o destino dos ácidos graxos absorvidos é determinado pelo comprimento de sua cadeia carbônica. Ácidos graxos de cadeia curta e glicerol livre são absorvidos diretamente na mucosa do intestino e transportados à circulação portal, sem sofrerem reesterificação (ROCHA, 2010).

Já dentro dos enterócitos, os monoglicerídeos e ácidos graxos de cadeia longa são reesterificados a triglicerídeos e agrupados ao colesterol, fosfolípídeos e proteínas específicas (apolipoproteínas) que os tornam hidrossolúveis. Esses grupamentos lipoproteicos, conhecidos como quilomicron ou protomicrons nas aves, são estruturas esféricas com a parte central de triglicerídeos e ésteres de glicerol e a superfície de fosfolípídeos e colesterol. O quilomicron torna-se hidrossolúvel e é capaz de ser transportado pelo sangue. Depois de sua formação, estes são liberados no líquido intersticial, onde podem ser absorvidos. (LEESON e SUMMERS, 2001).

A maioria dos sais biliares liberados no duodeno (taurocolato de sódio e glicocolato de sódio) permanecem misturados à digesta até atingirem a parte terminal do intestino delgado (íleo), onde serão reabsorvidos pelos enterócitos e transportados sistemicamente ao fígado pela veia porta-hepática. Os sais biliares são reabsorvidos pelos hepatócitos do sangue portal e reutilizados na síntese de bile. Essa reciclagem de sais biliares entre o trato gastrointestinal e o fígado é denominada de circulação entero-hepática (ROCHA et al. 2010)

2.2.3 FONTES LIPÍDICAS NA PRODUÇÃO AVIÁRIA

Os aspectos mais relevantes no momento da escolha do tipo de lipídeo a ser utilizado na dieta de animais são: o custo, a qualidade das respectivas fontes lipídicas, e quais são os seus efeitos sobre o desenvolvimento e a qualidade da carcaça em frangos de corte (ZOLLISTISCH et al. 1997).

A utilização de óleos como suplementação em dietas de frangos de corte é estudada há muito tempo por vários pesquisadores com o intuito de determinar os níveis ideais de sua inclusão, visando acompanhar os avanços genéticos obtidos nos últimos anos e melhorar o potencial produtivo das aves (MORITA, 1992).

A suplementação com óleos de origem vegetal e animal em rações para frangos é um procedimento padrão para melhorar a densidade energética das rações, aumentar o consumo, diminuir a taxa de passagem do alimento pelo TGI, assim como o incremento calórico e o estresse pelo calor, além de aumentar o consumo de ração (CR) e melhorar a conversão alimentar (CA) (BRAGA e BAIÃO, 2011). Nesta mesma linha, Ferreira (1999) ao testar diferentes fontes de gordura, verificou que a utilização de uma fonte lipídica na dieta de frangos resultou em um maior ganho de peso das aves.

O principal óleo vegetal utilizado na nutrição de frangos de corte é o óleo de soja (OS) e seus coprodutos. Tal óleo é obtido pela prensagem mecânica e/ou extração por solvente dos grãos de soja, isentos de misturas de outros óleos, gorduras ou outras matérias estranhas ao produto (BRASIL, 1993). O OS pode ser dividido a partir de três tipos de processamento: bruto/cru, degomado ou purificado/refinado. O óleo bruto ou cru é extraído por esmagamento mecânico do grão de soja. Este se torna purificado ou degomado após a extração dos fosfolipídeos e refinado após ser neutralizado, clarificado e desodorizado. É considerado um dos mais ricos a ser utilizado na nutrição de aves, pois, contém 99,6% de gordura com coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) para aves de 95% e energia metabolizável (EM) de 9.200 kcal/kg (ROSTAGNO et al., 2005).

Como coproduto da indústria do óleo de soja, temos o óleo ácido de soja (OA). Este é obtido após o processo de acidificação da borra, resultado do refino do OS. Possui em torno de 70% de AGL, enquanto que o OS refinado

possui apenas 1% de AGL (LIPSTEIN & BORNSTEIN, 1968). Devido ao seu baixo custo, o óleo ácido tem sido largamente utilizado como suplemento energético pela indústria de rações para animais. Entretanto, muitas indústrias consideram a borra um resíduo, podendo ocorrer então a mistura com resíduos dos demais grãos processados, como milho, girassol e canola. Dessa forma, a composição do OA é extremamente variada e questionada, dificultando sua padronização e consequente utilização (GAIOTTO, 2000).

Sob ponto de vista nutricional, a grande incerteza relacionada ao OA é o seu valor energético, além de uma menor proporção da gordura na forma de triglicerídeos e maior concentração de AGL, os quais aumentam com o grau de acidez do OA (WISEMAN et al. 1986). Ao estudar o OA, Freitas et al. (2002) encontraram valores para EM entre 7.488 e 8.610 kcal/kg de matéria seca (MS) para aves jovens e adultas, respectivamente.

Gorduras e óleos animais são em geral considerados triglicerídeos de composição variável de ácidos graxos, sendo sólidos ou líquidos à temperatura ambiente dependendo do seu grau de saturação. Os tecidos animais contendo gorduras são transformados pelo processamento industrial (graxaria) que envolve três variáveis: tempo, pressão e temperatura. Há vários sistemas de processamento, porém, o mais utilizado atualmente é a seco, no qual os tecidos animais contendo gordura são aquecidos em digestores. Não existe classificação das gorduras animais no Brasil, apenas são caracterizadas pela espécie da qual provém, chamando-se de gordura de aves (GA), óleo de peixe, sebo bovino (SB) e banha suína, os quais são obtidos em frigoríficos e (ou) abatedouros (BELLAYER et al. 2004).

Estes autores explicam que do ponto de vista nutricional, as gorduras e óleos de origem animal são fontes ricas em energia, baratas, quando comparadas às gorduras de origem vegetal, porém com pouca qualidade organoléptica no momento da fabricação de rações.

O sebo bovino é rico em ácidos graxos saturados e deve ser processado em no máximo 24 horas a partir do abate. Na recepção, todos os resíduos animais são triturados em partículas de 5 cm de espessura, formando uma massa, que segue para os equipamentos de cozimento. Já a gordura de aves é resultante dos coprodutos de abatedouros na graxaria. As vísceras, toda parte do frango que não será comercializada, bem como aves que tiveram

condenações de carcaças, são colocadas em um digestor que fará uma fritura, com intuito de eliminar a umidade presente (FASCINA, 2007).

Na (Tabela 2) encontram-se as composições de ácidos graxos e as características físico-químicas do óleo de soja, óleo ácido, sebo bovino e gordura de aves.

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO GORDURA DE AVES (GA), ÓLEO DE SOJA (OS), ÓLEO ÁCIDO (OA) E SEBO BOVINO (SB).

Parâmetros	Unidade	GA	OS	AO	SB
Umidade (máximo)	%	1,00	0,5	2,00	1,00
Impurezas (máximo)	%	1,00	0,1	2,00	1,00
Insaponificáveis (máximo)	%	0,30	1,5	5,00	0,90
AG totais (mínimo)	%	97,00	98,0	98,00	97,00
Acidez (AGL) (máximo)	%	2,00	1,0	50-80	2,00
Índice de Peróxido (máximo)	mEq/1000g	5,00	1,0	5,00	5,00
Índice de Saponificação	-	190-196	-	189-200	190-202
Índice de Iodo	-	73-85	-	105-125	35-48
Título	°C	31-35	-	-	40-46
Ponto de fusão	-	27-30	-	-	39-42
Energia Metabolizável Aparente Corrigida (EMAn)	Kcal/kg	8681	8790	7911	7436
Perfil de ácidos graxos					
Saturados					
Mirístico (C 14:0)	%	0,50	0,07	-	3,10
Palmítico (C 16:0)	%	26,50	16,00	14,70	29,10
Estearico (C 18:0)	%	5,50	18,00	4,60	18,90
Insaturados					
Oleico (C 18:1)	%	43,50	18,00	27,30	44,00
Linoleico (C 18:2)	%	14,50	18,00	45,80	0,90
Linolênico (C 18:3)	%	0,80	18,00	4,10	-

FONTE: SCHNEIDER (2012)

2.3 FATORES QUE AFETAM A DIGESTÃO DE LIPÍDEOS NAS AVES

As fontes lipídicas utilizadas na dieta de aves comerciais variam amplamente em sua composição de ácidos graxos. Características físico-químicas dos lipídeos associadas à idade do animal e à composição da dieta são fatores que podem afetar a digestão e absorção das fontes de gordura (ROCHA e MAIORKA, 2017).

2.3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS ÁCIDOS GRAXOS

O principal fator que afeta o valor de EM dos óleos e gorduras é sua digestibilidade, que depende de fatores como: comprimento da cadeia carbônica do ácido graxo, número de duplas ligações do ácido graxo, presença ou ausência de ligação éster, forma da gordura como triglicerídeo ou como ácido graxo livre, arranjo específico do ácido graxo saturado e insaturado no glicerol na molécula do triglicerídeo, idade da ave, relação de ácido graxo insaturado e saturado na mistura de ácidos graxos livres, flora intestinal e composição da dieta na qual os ácidos graxos são adicionados (LEESON e SUMMERS, 2001).

Dentre os fatores citados, destaca-se a relação entre ácidos graxos livres e triglicerídeos intactos, pois suplementos com ácidos graxos livres são absorvidos com menor eficiência do que os com ácidos graxos na forma de triglicerídeos. A razão disso é que o monoglicerídeo é essencial para a incorporação de ácidos graxos insolúveis no complexo micelar. Quando os ácidos graxos livres são fornecidos como única fonte de lipídeos, não existe monoglicerídeo suficiente para trabalhar todo o ácido graxo livre, com isso a absorção estará prejudicada (LARA, 2005).

Ácidos graxos saturados de cadeia longa são moléculas apolares e não possuem capacidade de formar micelas de forma tão eficiente quanto as moléculas polares, sendo a polaridade inversamente proporcional ao comprimento da cadeia carbônica. No caso dos ácidos graxos insaturados, a polaridade aumenta conforme o número de duplas ligações aumenta, ou seja, quanto mais longa ela for e quanto menor o número de insaturações na cadeia carbônica, maior será a necessidade de sais biliares para o processo de emulsificação e de ácidos graxos insaturados e fosfolipídeos para a formação das micelas (ROCHA e MAIORKA, 2017).

2.3.2 IDADE DA AVE E A PRODUÇÃO DE BILE

A produção de bile, fluido fundamental para o processo de emulsificação dos lipídeos, é estimulada pelo retorno dos sais biliares do intestino para o fígado, via circulação entero-hepática. Entretanto, nas duas

primeiras semanas pós-eclosão, a maioria das espécies avícolas apresentam a circulação entero-hepática imatura. Tal limitação fisiológica acarreta em uma reduzida reabsorção dos sais biliares e na produção da bile, consequentemente, a concentração destes no lúmen intestinal, é insuficiente para que o processo de emulsificação seja eficiente, resultando em menor aproveitamento dos lipídeos e da dieta na fase inicial (ROCHA e MAIORKA, 2017).

A partir da segunda semana pós-eclosão, a reabsorção de sais biliares se dá a níveis crescentes e, após a terceira semana de idade, as aves já apresentam plena capacidade de emulsificar os lipídeos da dieta (NIR, 1993), ou seja, as maiores diferenças na capacidade das aves em utilizar gordura são mais proeminentes entre a primeira e a terceira semana de idade, não havendo diferenças entre a quinta e a sétima semana (WISEMAN E SALVADOR, 1991).

Nir et al. (1995) observaram que a atividade específica da lipase era baixa logo após a eclosão dos pintinhos e que seu nível de secreção foi se elevando até os 15 dias de idade, quando atingiu o nível máximo.

Entretanto, para Krogdhal (1985) modificações do conteúdo lipídico causam mudanças no teor e na secreção da lipase pancreática, além disso, o autor cita que processos intracelulares essenciais para absorção dos lipídeos aumentam à medida que o consumo de lipídeos aumenta.

2.4 EMULSIFICANTES

Emulsificantes são agentes ativos de superfície e compostos anfifílicos, de peso molecular médio. Por esta razão os emulsificantes são absorvidos na interface entre óleo e a água, reduzindo a tensão superficial e a energia necessária à formação de emulsão. Entre os mais utilizados pela indústria de alimentos estão as proteínas, tais como do soro de leite (caseína), da soja e do ovo, os fosfolipídeos e as pequenas moléculas surfactantes, como polisorbatos e lecitinas (ARAÚJO, 2008).

Acredita-se que os fosfolipídeos sejam essenciais à utilização das gorduras pelo organismo animal. A lecitina, presente em grande quantidade na soja, é um complexo natural de fosfolipídeos, sendo composto principalmente

pela fosfatidilcolina. (CANTY & ZEISEL, 1994). Phan & Tso (2001) apontaram que, assim como os outros fosfolipídeos e o colesterol, a fosfatidilcolina não é hidrolisada no estômago pelas lipases lingual e gástrica; sua propriedade emulsificante ajuda a aumentar a dispersão das gorduras durante a fase aquosa da digestão e absorção intestinal.

Os fosfolipídeos da dieta têm duas funções importantes: aumentar a emulsão de lipídeos no intestino delgado e preparar a atividade da lipase. Eles melhoram a digestibilidade das gorduras, especialmente a dos ácidos graxos altamente saturados (RABER et al. 2009).

2.5 ENZIMAS

Enzimas são compostos proteicos que atuam em substratos específicos, conforme condições de temperatura, umidade e pH, em um período de tempo definido. Todas as reações bioquímicas que acontecem nos organismos vivos são catalisadas por alguma enzima (LECZNIESK, 2006).

Desde a década de 1980, as enzimas ou complexos enzimáticos têm sido amplamente utilizados nas rações e vem desempenhando um papel importante para melhorar a eficiência da produção. Seu modo de ação consiste basicamente na ligação com agentes antinutricionais em alguns ingredientes ou clivagem de substâncias químicas não disponíveis anteriormente, o que permite melhor aproveitamento dos nutrientes pelos animais (BARLETTA, 2011).

As enzimas endógenas são sintetizadas pelo próprio animal ou pela microbiota naturalmente presente no TGI. Porém, o processo digestivo nos animais não é totalmente eficiente, sendo que cerca de 15% a 25% do que é consumido pelos animais não é passível de digestão, seja pela presença de fatores antinutricionais que indisponibilizam nutrientes, ou porque o animal não sintetiza determinadas enzimas necessárias à quebra dessas ligações, ou ainda o animal sintetiza a enzima, porém não em quantidade equivalente para digerir o ingrediente presente na ração, principalmente no caso de aves jovens (BARLETTA, 2011).

O uso de enzimas exógenas em dietas para frangos pode melhorar a digestão/absorção de ingredientes convencionais e não convencionais, reduzir

os efeitos de fatores antinutricionais, ou proporcionar a ave uma melhor capacidade de digerir certos componentes da dieta. A alteração na digesta proveniente do uso de tais enzimas está centralizada na melhoria da digestibilidade dos chamados polissacarídeos não amiláceos (VASCONCELLOS, 2011).

O mesmo autor cita que a adição de enzimas digestivas à dieta das aves propicia menor viscosidade da digesta, através da degradação dos complexos de fibras solúveis. Tal efeito otimiza a digestão dos nutrientes, diminuiu a ingestão de água, e com isso o índice de umidade da cama do aviário. Além disso, as enzimas exógenas decompõem a fibra das paredes celulares e facilitam o acesso das enzimas endógenas aos nutrientes encapsulados dentro destas paredes.

Atualmente são conhecidas mais de quatro mil enzimas, nas quais aproximadamente duzentas são utilizadas comercialmente, a grande maioria de origem microbiana. Pelo menos 75% das enzimas utilizadas são hidrolases e destas, cerca de 90% são produzidas por microrganismos através de processos fermentativos. As lipases constituem o terceiro maior grupo de vendas do mundo, perdendo apenas para as proteases e carboidrases (MESSIAS, 2011).

Entretanto, de acordo com Angel & Sorbara (2014), poucas publicações utilizando enzimas em dietas para aves incluem a quantidade de substrato utilizada, e ainda menos pesquisas demonstram o impacto da enzima na degradação do substrato. Os mesmos autores realizaram uma revisão integrativa no periódico *Poultry Science* de Janeiro de 2010 a Dezembro de 2013, e observaram 37 artigos publicados que continham a palavra fitase (enzima que degrada o ácido fítico presente nos vegetais). Sendo que apenas 1 artigo realizou uma análise in vitro para observar a degradação do substrato diante a enzima.

2.5.1 LIPASE

As lipases são definidas como carboxilesterases que hidrolisam acilgliceróis de cadeia longa, ou seja, com cadeia acila constituída por mais de

10 átomos de carbono. Porém, algumas enzimas apresentam capacidade de hidrolisar apenas acilgliceróis com menos de 10 carbonos, e são denominadas genericamente de esterases (GHALY et al., 2010). Corroborando com tal afirmação, Brockman (1984), apontou que os substratos naturais para lipases são óleos e gorduras contendo triacilgliceróis constituídos de ácidos graxos de cadeia longa.

As principais fontes de obtenção de lipases industriais têm sido os microrganismos, tanto os eucariotos (leveduras e fungos) como procariotos (bactérias) (SAXENA, 2003). Sendo que a estrutura química e características cinéticas de cada lipase microbiana depende diretamente do tipo de microrganismo, gênero, espécie e também da cepa utilizada pra sua produção (MESSIAS, 2011).

As lipases comerciais são desenvolvidas principalmente pelo método de fermentação submersa, a qual está associada ao crescimento microbiano, e consequentemente, as variações e condições de cultivo (SHARMA, 2001). Pandey (2003) citou outro método bastante utilizado na produção de lipases denominado de fermentação em estado sólido, no qual são utilizados substratos insolúveis com baixas porcentagens de água em sua composição, servindo como fonte de nutrientes e suporte fisiológico para sua proliferação.

De modo geral, as lipases microbianas apresentam especificidade por determinados ácidos graxos, segundo Zaidi et al. (2002) cada lipase apresenta um comportamento diferenciado, sendo a especificidade enzimática diretamente relacionada com o caráter eletrofílico do carbono na molécula doadora de acila, da acidez, do efeito estérico, da proporção dos substratos e da hidrofobicidade do grupo carboxílico. Corroborando com tal afirmação, Reinehr (2014) ao estudar lipases microbianas igualmente provenientes de microrganismos do gênero *Aspergillus* observou maior afinidade da enzima pelo ácido oléico, nesse sentido, foi possível inferir uma maior afinidade da lipase microbiana por ácidos graxos de cadeia longa.

Na (Tabela 3) está descrito as aplicações das lipases microbianas na indústria.

TABELA 3 - APLICAÇÃO INDUSTRIAL DE LIPASES MICROBIANAS

Indústria	Aplicação
Laticínio	Hidrólise da gordura do leite Aumento do aroma, da qualidade e da vida de prateleira
Cervejaria	Aumento do aroma e aceleração do processo fermentativo
Molhos e condimentos	Aumento das propriedades funcionais da gema do ovo
Processamento de carnes	Desenvolvimento de aromas e redução de gorduras Introdução de ácidos graxos de interesse em óleos naturais
Óleos e gorduras	Síntese de ésteres
Química	Hidrólise de gordura
Detergentes	Auxiliares da digestão
Farmacêutica	Determinação de lipídeos no sangue
Médica	Remoção de gordura da matéria-prima
Couro	Decomposição de lipídeos de efluentes
Tratamento de resíduos	Auxiliares da digestão
Nutrição animal	

FONTE: Adaptado de GANDHI (1997)

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Avaliar os impactos da suplementação de lipase exógena, produzida por microrganismos do gênero *Aspergillus sp*, em dietas contendo diferentes fontes lipídicas sobre parâmetros fisiológicos e índices zootécnicos de frangos de corte de 0 a 21 dias de idade.

3.2 ESPECÍFICOS

Mensurar a atividade enzimática da lipase exógena *in vitro*

Realizar um ensaio de digestibilidade

Avaliar parâmetros de desempenho zootécnico

Realizar análises de parâmetros bioquímicos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias sob o número 43, em reunião datada de 02/06/2017 (Anexo 1).

4.1 ENSAIO ENZIMÁTICO *IN VITRO*

O ensaio enzimático foi realizado no Laboratório de Tecnologia Enzimática e Biocatálise (*LTEB*), Departamento de Química, Campus Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (UFPR), por meio da dosagem de atividade lipolítica (hidrólise) da lipase exógena (produzida por fungos do gênero *Aspergillus sp*) que foi utilizada na ração das aves, pelo método de pHStat. A dosagem de atividade lipolítica de hidrólise pelo método titulométrico, consiste na titulação com NaOH dos ácidos graxos liberados pela ação da lipase exógena sobre os triacilglicerídeos. Uma unidade (U) de atividade enzimática é definida como a quantidade de enzima que promove a liberação de 1 μmol de ácido graxo por minuto. Este método baseia-se na metodologia proposta por Stuer, Jaeger e Winkler (1986), com modificações.

A emulsão para análise foi preparada através de uma solução contendo água destilada, Tris-HCL (2,5 mmol/L, pH 7,0), CaCl_2 (2 mmol/L), NaCl (150 mmol/L), goma arábica (3%) e as diferentes fontes lipídicas foco do nosso estudo: óleo de soja (OS), sebo bovino (SB), gordura de aves (GA) e óleo de soja (OA).

Todas as análises foram realizadas em meio com (potencial hidrogênio) pH 8 e temperatura constante de 40°C de acordo com valores de referência para atividade enzimática pancreática citados por Bueno (2005).

Após rodar as amostras no equipamento PhStat a análise dos dados foi feita da seguinte forma:

- a) Anotou-se os volumes de NaOH (0,05M) consumidos a cada 30s até 300s para realizar a plotagem de um gráfico de volume de NaOH (mL) x tempo (s).

- b) A partir do gráfico, foi possível calcular a velocidade da reação, que é o consumo de NaOH pelo tempo.
- c) Cálculo da atividade da enzima com a seguinte equação:

$$A = \frac{\left(\frac{\partial V}{\partial t}\right) \cdot [NaOH] F_{NaOH} F_{pH}}{X}$$

$\partial V/\partial t$: velocidade do consumo de NaOH (mL.min⁻¹); [NaOH] (μmol.mL⁻¹);

F_{NaOH} : fator de correção da solução de NaOH (adimensional);

F_{pH} : fator de correção relacionado ao pKa do substrato no pH do ensaio (adimensional);

X: quantidade de enzima adicionada, que poderá estar na forma líquida (mL), liofilizada (g), imobilizada em um suporte sólido (g) ou no sólido fermentado seco (gSS);

A: atividade lipolítica nas condições de pH e temperatura analisadas.

Unidade de atividade lipolítica (U) é definida como a quantidade de enzima capaz de produzir 1 μmol de ácidos graxos / min.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05) através do Software Minitab®.

4.2 EXPERIMENTO I - ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE

Foram utilizados 1080 pintos de corte machos de 1 dia, da linhagem comercial Cobb®, distribuídos em 09 tratamentos em delineamento inteiramente ao acaso, arranjos em fatorial 4x2+1 (Tabela 4), com 8 repetições de 15 aves cada. Os animais foram alojados em baterias metálicas com dimensões de 0,98 x 0,90 x 0,50 m equipadas com comedouros e bebedouros tipo calha. O experimento foi conduzido na bateria experimental do Laboratório de Estudos e Pesquisa em Produção e Nutrição de Não-

Ruminantes (LEPNAN), Departamento de Zootecnia, Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

TABELA 4 - DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS NO PERÍODO DE ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE.

Tratamentos	Descrição
REF	Ração referência
T1	OA com lipase*
T2	SB com lipase*
T3	GA com lipase*
T4	OS com lipase*
T5	OA sem lipase*
T6	SB sem lipase*
T7	GA sem lipase*
T8	OS sem lipase*

OA: óleo ácido; SB: sebo bovino; GA: gordura de aves; OS: óleo de soja

*Enzima exógena na dosagem de 200g / ton

A dieta referência foi fornecida na forma farelada e foi formulada à base de milho e farelo de soja, seguindo as recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2011) para frangos de corte na fase inicial e crescimento (Tabela 5). Foram utilizadas nove rações, sendo a ração referência e oito rações compostas por 93% da fórmula referência e 7% de inclusão de OS, AO, GA ou SB; segundo o método de substituição proposto por Matterson et al. (1965), com e sem adição de lipase na dose de 200g por tonelada (ton). A enzima foi adicionada à ração na forma de pó e misturada mecanicamente em um misturador de ração.

O programa de luz ao qual os animais foram submetidos foi constante, com o fornecimento de 24 horas de luz durante o ensaio de digestibilidade. A temperatura se manteve controlada durante todo o período experimental com termômetro de máxima e mínima e as aves tiveram livre acesso à água e ração.

TABELA 5 - INGREDIENTES E COMPOSIÇÃO QUÍMICA ANALISADA DA DIETA REFERÊNCIA.

Ingredientes	(%)
Milho 7,8%	49,87
Farelo de Soja 46%	28,95
Milho Amido	10,00
Milho Protenose 60%	5,96
Fosfato bicálcico	1,84
Caulim	1,00
Calcário 38%	0,81
L-Lisina 78%	0,40
PX Vit./Min. Inicial Frango de Corte ¹	0,20
Bicarbonato de Sódio	0,30
Sal	0,27
DL-Metionina 99%	0,22
L-Treonina 98,5	0,08
Cloreto de Colina 60%	0,07
Total	100,00
Composição Química Calculada	
Proteína (%)	21,40
Gordura Bruta (kcal/kg)	2,42
Matéria Mineral (%)	5,08
Fósforo Total (%)	0,69
Cálcio	0,9
Sódio (%)	0,20
Cloro (%)	0,29
EM Aves (Kcal/kg)	2.950,017

* Nos tratamentos que continham enzima, a mesma foi adicionada na dose de 200g/ton de ração.

¹ Suplemento vitamínico e mineral (níveis/kg de ração): vitaminas A: 12000 UI; D3: 2400 UI; K: 3,2 mg; B1: 2,4 mg; B2: 4,8 mg; B6: 4,8 mg; B12: 24 mg; niacina: 256 mg; ácido pantotênico: 12 mg; biotina: 0,096 mg; ácido fólico: 1,2 mg; colina: 800 mg; selênio: 0,144 mg; iodo: 0,56 mg; ferro: 40,08 mg; cobre: 8 mg; manganês: 62,4 mg; zinco: 44 mg; avilamicina: 80 mg; nicarbazina: 6 mg.

O ensaio de digestibilidade foi conduzido pelo método da coleta total de fezes, de acordo com Sibbald e Slinger (1963). As dietas foram fornecidas por um período de adaptação de quatro dias, seguidos por cinco dias (4 a 8 dias de idade das aves) de coleta total das excretas acumuladas nas bandejas de cada repetição. As amostras de excretas foram coletadas duas vezes ao dia no intervalo de 12 horas e, em seguida acondicionadas separadamente em sacos plásticos identificados e armazenadas em freezer à – 20°C.

Ao final do período de coleta, as excretas coletadas e amostras das rações de todos os tratamentos foram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal, Departamento de Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, em Curitiba para análise bromatológica.

As excretas foram descongeladas a temperatura ambiente e homogeneizadas. Em seguida, secas em estufa de ventilação forçada a 55°C até peso constante.

Após a pré-secagem, a ração referência, as dietas experimentais e as excretas passaram por moagem a 0,5 mm e foram analisadas quanto a matéria seca (MS) a 105°C, Extrato Etéreo (EE) e Matéria Mineral (MM) segundo a AOAC (1995). A energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica.

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e a energia metabolizável (EM) foram calculados com base nos resultados laboratoriais das dietas e excretas segundo o método proposto por Sibbald e Slinger (1963).

$$CDA (\%) = ((g \text{ de nutriente ingerido} - g \text{ de nutriente excretado}) / g \text{ de nutriente ingerido}) \times 100$$

$$EM \text{ (kcal/kg)} = \{kcal/g \text{ energia bruta ingerida} - kcal/g \text{ energia bruta excretada nas fezes} - [(g \text{ proteína bruta ingerida} - g \text{ proteína bruta excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal/g}]\} / g \text{ de alimento ingerido.}$$

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) através do Software Minitab®

4.3 PERFIL LIPÍDICO E ANÁLISE ENZIMÁTICA

Ao longo dos 21 dias de experimento, as aves foram submetidas a coleta de material biológico para análises fisiológicas. Tais coletas justificam o número menor de animais utilizados no experimento 2 quando comparado ao experimento 1. Aos dias 7, 14 e 21 dez aves de cada tratamento foram separadas ao acaso, pesadas e eutanasiadas por deslocamento cervical, no dia 1 do experimento apenas cinco aves / tratamento foram utilizadas para tais coletas. O pâncreas foi retirado, limpo de gorduras aderentes e pesado em balança de precisão, assim como, o fígado e o intestino delgado. Além disso, foi realizada coleta de amostra sanguínea de cada ave selecionada. As amostras de sangue foram centrifugadas a 2000rpm durante 10 minutos para obtenção de soro. Em seguida, as amostras de soro foram identificadas e armazenadas em câmara fria a -80°C.

A nível sérico foram mensurados parâmetros bioquímicos como, colesterol total, triglicerídeos totais, colesterol HDL, colesterol LDL e concentração sérica de lipase. Tais análises foram realizadas através de kits específicos produzidos pela LabTest por meio de métodos colorimétricos, e

lidas em espectrofotômetro 490nm, no qual a intensidade da cor obtida após a reação é diretamente proporcional à concentração de colesterol total, triglicerídeos totais, colesterol HDL, colesterol LDL e lipase sérica na amostra. O lipidograma foi realizado no Laboratório de Metabolismo Celular (MetaLab), Departamento de Fisiologia, Campus Centro Politécnico, a análise de lipase foi realizada no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, Hospital Veterinário, Setor de Ciências Agrárias, ambos pertencentes a UFPR.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) através do Software Minitab®.

4.4 EXPERIMENTO II – DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

Aos oito dias de idade, os animais restantes do experimento 1 (960) foram pesados e mantidos na mesma distribuição anterior. Apenas os animais do tratamento referência foram redistribuídos de forma aleatória dentre os tratamentos restantes. Ao total foram utilizados 960 pintos de corte (machos) da linhagem comercial Cobb®, criados de 8 a 21 dias de idade em 64 gaiolas metálicas idênticas as do experimento 1. De 8 a 15 dias de idade as aves receberam 24 horas de luz e entre 15 e 21 dias de idade as aves permaneceram sob luz natural. As aves foram alojadas em ambiente com temperatura controlada, sendo a máxima de 31°C na primeira semana e reduzindo gradativamente até 24°C aos 21 dias de idade. As aves receberam água e ração à vontade durante todo o período experimental.

As dietas atendiam as recomendações nutricionais segundo Rostagno et al. (2011), foram fornecidas na forma farelada e formuladas à base de milho e farelo de soja, variando apenas quanto à fonte lipídica, e a adição ou não da lipase (Tabela 6). A enzima utilizada foi a mesma do Experimento 1, na dose de 200g / ton de ração, ao qual também foi adicionada na forma de pó e misturada mecanicamente em um misturador de ração.

TABELA 6 - INGREDIENTES E COMPOSIÇÃO QUÍMICA ANALISADA NAS DIETAS EXPERIMENTAIS.

Ingredientes (Kg/ton)	OS	GA	SB	OA
Milho 7,8%	536,61	536,61	536,61	536,61
Farelo de soja 46%	366,37	366,37	366,37	366,37
Sebo Bovino (SB)	--	--	54,61	--
Óleo de Soja (OS)	49,09	--	--	--
Óleo de Aves (OA)	--	51,40	--	--
Óleo Ácido de Soja (OAS)	--	--	--	57,36
Calcário 38%	8,00	8,00	8,00	8,00
Fosfato bicálcico	18,00	18,00	18,00	18,00
Bicarbonato Sódio	2,00	2,00	2,00	2,00
Sal	3,50	3,50	3,50	3,50
Caolim	8,26	5,95	2,74	--
Lipase	0,20	0,20	0,20	0,20
L-Treonina 98,5	0,61	0,61	0,61	0,61
L-Lisina 78%	2,05	2,05	2,05	2,05
DL-Metionina 99%	2,60	2,60	2,60	2,60
Cloreto de Colina 60%	0,70	0,70	0,70	0,70
PX Vit./Min. Inicial Frango de Corte ²	2,00	2,00	2,00	2,00
Total	1.000	1.000	1.000	1.000
Composição química calculada com base na matéria seca				
Proteína (%)	20,0	20,0	20,0	20,0
Gordura Bruta (%)	6,54	7,09	7,39	7,14
Matéria Mineral(%)	5,14	5,14	5,14	5,14
Cálcio(%)	0,86	0,86	0,86	0,86
Fósforo Total (%)	0,71	0,71	0,71	0,71
Sódio (%)	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição química calculada				
EMa (kcal/kg)	3100	3100	3100	3100

²Nos tratamentos que continham enzima, a mesma foi adicionada na dose de 200g/ton de ração.

¹ Suplemento vitamínico e mineral (níveis/kg de ração): vitaminas A: 12000 UI; D3: 2400 UI; K: 3,2 mg; B1: 2,4 mg; B2: 4,8 mg; B6: 4,8 mg; B12: 24 mcg; niacina: 256 mg; ácido pantotênico: 12 mg; biotina: 0,096 mg; ácido fólico: 1,2 mg; colina: 800 mg; selênio: 0,144 mg; iodo: 0,56 mg; ferro: 40,08 mg; cobre: 8 mg; manganês: 62,4 mg; zinco: 44 mg; avilamicina: 80 mg; nicarbazina: 6 mg.

Foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho zootécnico: consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e mortalidade das aves em cada período. A ração fornecida e as sobras, assim como as aves, foram pesadas no 8º, 14º e 21º dia. O GP foi obtido pela diferença entre o peso final e o peso inicial de cada fase; o CR foi calculado pela diferença entre o total de ração fornecida e as sobras de ração no final dos intervalos e a CA foi calculada pela razão entre o total de ração fornecida e o GP no período. A mortalidade foi conferida duas vezes ao dia e as aves mortas pesadas para ajuste da conversão alimentar.

Os parâmetros de desempenho (GP, CR e CA corrigida para mortalidade) foram calculados conforme as fórmulas descritas abaixo:

$GP_{\text{corrigido}} = [(Peso \text{ final} - Peso \text{ inicial}) + Peso \text{ da ave morta}] / \text{Número médio de aves}$

$$CR = \frac{\text{Quantidade de ração fornecida} - \text{Quantidade de sobra de ração}}{\text{Número médio das aves}}$$

$$CA_{\text{corrigida}} = \text{Consumo de ração} / \text{Ganho de Peso}_{\text{corrigido}}$$

O experimento foi dividido em oito tratamentos com oito repetições de quinze aves cada, em um delineamento inteiramente casualizado, decomposto em um modelo fatorial 4x2, composto por quatro fontes lipídicas (OS, OAS, SB, OA) com e sem adição de enzima, conforme (Tabela 7).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) através do Software Minitab®.

TABELA 7 - DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS NO PERÍODO DE DESEMPENHO ZOOTÉCNICO.

Tratamentos	Descrição
T1	OA com lipase*
T2	SB com lipase*
T3	GA com lipase*
T4	OS com lipase*
T5	OA sem lipase*
T6	SB sem lipase*
T7	GA sem lipase*
T8	OS sem lipase*

OA: óleo ácido; SB: sebo bovino; GA: gordura de aves; OS: óleo de soja

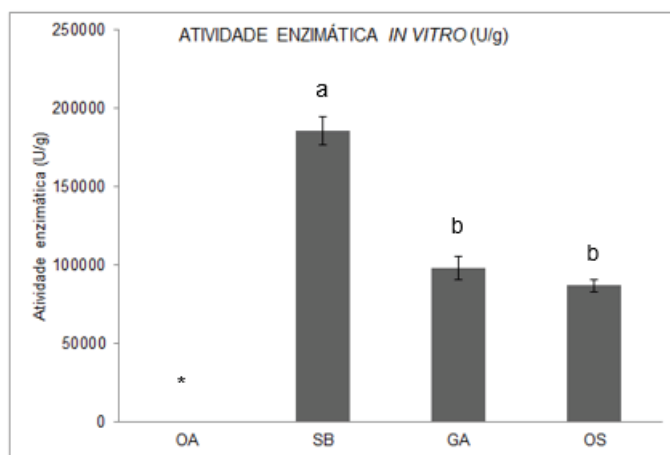
*Enzima exógena na dosagem de 200g / ton

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE ENZIMÁTICA *IN VITRO*

Os resultados da atividade enzimática *in vitro* nas diferentes fontes lipídicas utilizadas encontram-se na (Figura 4). Houve diferença estatística para o SB em relação aos demais óleos, o qual apresentou a maior atividade enzimática ($p < 0,05$). A GA e o OS não diferiram entre si, já OA não apresentou atividade.

FIGURA 4 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA *IN VITRO* DA ENZIMA LIPASE NOS DIFERENTES TIPOS DE ÓLEO (MÉDIA $\pm$ DESVIO PADRÃO) ($n=4$).



OA: óleo ácido; SB: sebo bovino; GA: gordura de aves; OS: óleo de soja.

a, b Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

*Não apresentou atividade enzimática

Probabilidade: Houve diferença estatística significativa para o SB quando comparado a GA e OS segundo o teste de Tukey com $p < 0,01$

Os óleos ácidos apresentam de 75 a 90% de ácidos graxos presentes nos óleos de que se originam, sendo que destes a maioria se encontra na forma de ácido graxo livre e uma pequena parcela na forma de triacilglicerol. Desta forma, o OA apresenta boa parte do produto final do metabolismo de gordura já disponível, os ácidos graxos livres, o que o torna um óleo já hidrolisado, ou seja, ácido (FREITAS, 2005).

A reação de hidrólise de uma gordura procede em estágios, no qual ocorrem simultaneamente em velocidades diferentes. Nas reações de hidrólise enzimática, os triglicerídeos são convertidos para diglicerídeos e monoglicerídeos e estes em glicerol e ácidos graxos. Sendo assim, uma

gordura já hidrolisada, como o OA, não sofre a mesma ação enzimática que óleos não hidrolisados, pois a gordura hidrolisada já apresenta os ácidos graxos disponíveis no sistema (BUENO, 2005).

Ao analisar uma lipase exógena, Ferreira (2004) evidenciou que quanto menor o pH do meio menor será a atividade catalítica da enzima. O autor detectou uma atividade enzimática até dez vezes menor ao comparar a atividade em pH ácido (2,0) e neutro (7,2). Ou seja, enzimas são diretamente afetadas pelo pH, sendo que toda enzima possui um valor de pH considerado como ótimo, ao qual exercerá todo seu potencial enzimático. Entretanto, valores de pH extremamente baixos ou altos podem resultar numa acentuada queda ou total perda de atividade (WORTHINGTON, 1972). Na mesma linha de pesquisa, Silva (2013) ao testar uma lipase microbiana, constatou que houve um aumento da atividade com a elevação do pH apresentando um pico em pH 6,0 seguida de uma acentuada queda no pH 6,5.

A gordura animal (sebo bovino) difere de algumas gorduras vegetais (óleo de soja) com relação as suas propriedades químicas. Os óleos vegetais apresentam em sua composição uma grande quantidade de ácidos graxos insaturados, já as gorduras de origem animal apresentam na sua composição uma grande quantidade de ácidos graxos saturados (CUNHA, 2008).

Ao comparar a seletividade de inúmeras enzimas comerciais frente aos diferentes tipos de ácidos graxos, Halldorsson, (2004) constatou que todas as enzimas testadas apresentaram maior afinidade por ácidos graxos mais saturados, ou seja, com menor quantidade de duplas ligações ou nenhuma, assim como o SB.

Os dados encontrados para SB corroboram com Linfield (1984) que ao estudar a hidrólise do sebo utilizando lipase igualmente proveniente de *Aspergillus sp* observou altos valores de conversão à ácidos graxos livres (97-99% em 72 horas).

5.2 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE

Os resultados de digestibilidade das dietas estão representados na (Tabela 9). Houve diferença estatística significativa para todas as fontes de gorduras em todas as variáveis ($p < 0,05$). Sendo que o OS e a GA

apresentaram os maiores valores de coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB), extrato etéreo (CDEE) e energia metabolizável (EM) quando comparados com o SB e OA. O SB apresentou os menores índices para CDMS, CDEE e EM em comparação ao OA, GA e OS. A adição de lipase não influenciou os coeficientes de digestibilidade.

TABELA 8 - COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DA MATÉRIA SECA, PROTEÍNA BRUTA, EXTRATO ETÉREO E ENERGIA METABOLIZÁVEL DAS DIETAS COM OU SEM ADIÇÃO DE LIPASE PARA FRANGOS DE CORTE DE 4 A 8 DIAS DE IDADE (MÉDIA±DESVIO PADRÃO) (N=64).

DIETA	CDMS (%)	CDPB (%)	CDEE (%)	EM (%)
AO	76,06±2,04ab	72,21±4,00b	67,93±6,15b	3269,8±103,2b
SB	75,63±1,93b	72,99±2,83ab	60,07±3,84c	3247,3±86,7b
GA	77,18±1,44ab	74,16±2,20ab	71,95±2,93ab	3371,1±66,8a
OS	77,70±0,83 ^a	75,78±1,73 ^a	75,30±2,15 ^a	34067±37,9a
Com enzima	76,42±1,63	73,05±3,43	66,95±7,11	3318,3±98,7
Sem enzima	76,89±1,93	74,49±2,48	70,68±6,42	3329,1±105,1
P* (óleos)	0,0112	0,0201	<0,001	<0,001
P* (enzima)	0,348	0,1082	0,062	0,7145
P* (interação)	0,317	0,623	0,099	0,802

CDMS: coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDPB: coeficiente de digestibilidade da proteína bruta; CDEE: coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo; EM: energia metabolizável; OA: óleo ácido; SB: sebo bovino; GA: gordura de aves; OS: óleo de soja.

a, b, c Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

*Probabilidade: Houve diferença estatística significativa em todas as variáveis apenas para as diferentes gorduras (p<0,05).

O óleo de soja é uma fonte lipídica rica em ácidos graxos insaturados e gordura na forma de triglicerídeos. Segundo Wiseman & Salvador (1991), os óleos vegetais são os que possuem melhor absorção nos primeiros dias de vida da ave. Os valores observados para as fontes vegetais como o OS, variam de 85% nas primeiras semanas de vida a 98% de absorção na fase adulta. Este óleo é considerado um ingrediente com composição interessante para uso avícola sob o ponto de vista metabólico, uma vez que tem maior riqueza em ácidos graxos insaturados (oleico, linoleico e linolênico), que são bem assimilados pelas aves (LARA, 2005).

Nossos resultados para digestibilidade corroboram com os dados encontrados por Freitas (1999) que ao trabalhar com frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade, observou melhora na digestibilidade do extrato etéreo, quando o óleo de soja foi adicionado à ração. Entretanto, Junqueira

(2005) testou seis diferentes gorduras quanto a energia metabolizável e encontrou os maiores valores para o óleo de girassol seguido do óleo de soja, em seu trabalho a gordura de aves apresentou o segundo pior valor de EM o que difere do resultado encontrado nesta pesquisa, ao qual foi encontrado valores estatisticamente semelhantes de EM para o OS e a GA.

Como já descrito anteriormente, o SB possui menor proporção da gordura total na forma de triglicerídeos e maior concentração de ácidos graxos livres. Essa composição pode levar a uma menor digestibilidade da gordura. O fato dessa relação entre os AGL e triglicerídeos ser tão importante justifica a menor digestibilidade do SB, pois os AGL são absorvidos com menor eficiência do que aqueles provenientes dos triglicerídeos. Isso acontece em razão dos monoglicerídeos serem essenciais à incorporação dos ácidos graxos insolúveis no complexo micelar. Quando os AGL são fornecidos como única fonte de lipídio na dieta, não existe monoglicerídeos suficiente e a absorção fica prejudicada (BLANCH et al. 1995). Tais afirmações corroboram com a pesquisa realizada por Carew (1972), que ao avaliar a digestibilidade do sebo bovino, observou níveis de apenas 40% na primeira semana de idade.

Ao estudar a suplementação de lipase exógena em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos na fase inicial, Slominski (2006) também não observou diferença significativa para digestibilidade entre o tratamento controle e a adição da enzima. A falta de resposta na digestibilidade da gordura à adição da lipase microbiana sugere que, além da insuficiente produção de lipase pancreática nos primeiros dias de vida do animal, a deficiente síntese de bile nesse período também possui um impacto expressivo na digestibilidade dos lipídeos, sendo assim, a suplementação de apenas um dos fatores isoladamente pode não ser tão eficiente quanto o esperado.

5.3 PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS E FISIOLÓGICOS

Os efeitos do uso da lipase e das diferentes fontes lipídicas sobre o tamanho dos órgãos estão apresentados na (Tabela 11). Não houve diferença estatística para nenhuma das variáveis ($p < 0,05$).

TABELA 9 - EFEITO DO USO DAS FONTES LIPÍDICAS E LIPASE SOBRE O PESO DE ÓRGÃOS DE FRANGOS DE CORTE AOS 7, 14 E 21 DIAS DE IDADE (MÉDIA±DESVIO PADRÃO).

DIETA	7 DIAS (n=80)	14 DIAS (n=80)	21 DIAS (n=80)
PÂNCREAS (g)			
AO	1,20±0,19	1,62±0,28	2,87±0,50
SB	1,20± 0,19	1,92±0,33	3,23±0,56
GA	1,21±0,19	1,92±0,33	2,79±0,49
OS	1,21±0,19	1,83±0,32	2,96±0,52
Com enzima	1,22±0,19	1,83±0,32	2,97±0,52
Sem enzima	1,20±0,19	1,81±0,31	2,95±0,51
P* (óleos)	0,9979	0,1339	0,2795
P* (enzima)	0,7550	0,8949	0,9043
P* (interação)	0,9876	0,5897	0,1606
FÍGADO (g)			
AO	9,76±1,20	15,03±2,44	25,82±2,89
SB	10,63±1,31	16,78±2,73	23,67±2,65
GA	9,42±1,16	15,06±2,45	24,33±2,72
OS	10,07±1,24	15,13±2,46	24,37±2,73
Com enzima	9,69±1,19	15,5±2,52	24,72±2,77
Sem enzima	10,26±1,26	15,5±2,52	24,37±2,73
P* (óleos)	0,1776	0,3473	0,3718
P* (enzima)	0,1514	0,999	0,6914
P* (interação)	0,3020	0,3579	0,4415
JEJUNO (g)			
AO	14,82±1,94	21,29±7,08	47,1±8,98
SB	14,13±1,85	20,98±6,98	42,03±8,01
GA	14,04±1,84	19,21±6,39	39,34±7,50
OS	14,61±1,91	21,98±7,31	38,05±7,25
Com enzima	14,71±1,92	21,18±7,05	42,14±8,03
Sem enzima	14,09±1,84	20,55±6,84	41,12±7,84
P* (óleos)	0,7602	0,834	0,0732
P* (enzima)	0,3099	0,7752	0,6864
P* (interação)	0,1529	0,8229	0,5986

OA: óleo ácido; SB: sebo bovino; GA: gordura de aves; OS: óleo de soja; g: gramas.

*Probabilidade: Não houve diferença estatística significativa para as variáveis avaliadas segundo o teste de Tukey (p<0,05).

O tamanho dos órgãos não diferiu segundo a fonte de gordura utilizada ou presença de enzima.

Lara (2006) ao estudar a inclusão de OS, GA e OA sobre a composição de carcaça de frangos de corte, também não encontrou diferenças no tamanho dos órgãos dos animais. Esse dado, assim como o encontrado no presente trabalho, coincide com os achados por outros autores, Alao e Balnave (1985),

Zollitsch (1997) e Andreotti (2002). Sakomura (2004) ao avaliar o efeito da idade na atividade enzimática e tamanho do pâncreas, observou que o órgão acompanhou a curva de crescimento da ave independente da dieta fornecida.

Ao analisar os efeitos da suplementação de lipase no desempenho e nos parâmetros digestivos de frangos alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, Al-Marzooqi (2000), também não encontrou diferença na dimensão do pâncreas e intestino, independente da suplementação enzimática.

Os efeitos do uso da lipase e das diferentes fontes de gordura sobre a concentração sérica de triglicerídeos totais, colesterol total, colesterol-HDL e colesterol-LDL das aves encontram-se na (Tabela 12). Na (Figura 4) está representado o efeito da enzima sobre tais parâmetros bioquímicos. Não houve diferença estatística para nenhuma das variáveis ($p < 0,05$).

Não houve interação entre as diferentes fontes de gordura, a suplementação enzimática e o perfil lipídico sérico dos animais. Neto (2005) ao testar óleo de soja e óleo de vísceras com e sem a adição de emulsificante, também não detectou diferenças entre as variáveis séricas de lipídeos analisadas, concordando com Murata (1998) e Raber (2008) que não observaram influência das diferentes fontes de óleo sobre os perfis séricos de colesterol total, colesterol-HDL e triglicerídeos em poedeiras comerciais e frangos de corte respectivamente. Ainda nesse sentido, Andrade et al. (2017) ao avaliar o desempenho e parâmetros bioquímicos de frangos suplementados com complexos enzimáticos não observou alterações nos níveis séricos de creatina, glicose, ácido úrico e colesterol.

TABELA 10 - EFEITO DO USO DAS FONTES LIPÍDICAS E LIPASE SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE TRIGLICERÍDEOS, COLESTEROL TOTAL, HDL E LDL AOS 7, 14 E 21 DIAS DE IDADE (MÉDIA±DESVIO PADRÃO)

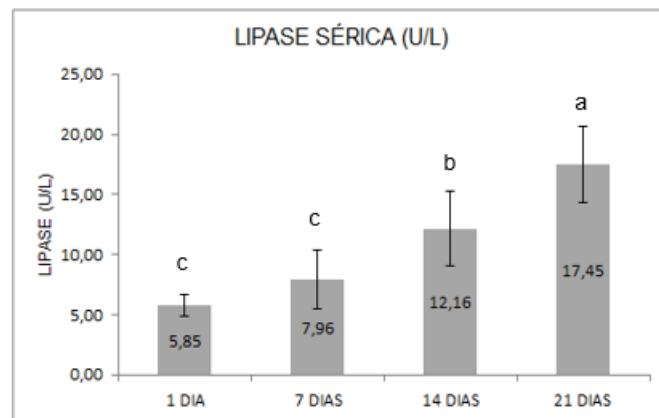
DIETA	TRIGLICERÍDEOS (mg/dl)	COLESTEROL TOTAL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
7 DIAS (n=80)				
AO	90,17±20,42	119,58±13,84	92,26±9,47	16,78±3,16
SB	99,50±29,13	137,35±16,34	84,56±6,81	19,87±3,99
GA	84,61±19,00	133,84±21,50	89,87±9,50	20,69±5,01
OS	99,21±26,03	144,43±22,58	92,41±7,33	23,04±5,78
Com enzima	96,03±19,76	135,09±23,26	89,37±8,61	20,10±5,79
Sem enzima	90,72±23,20	132,51±20,46	90,18±6,47	20,01±5,13
P* (óleos)	0,535	0,139	0,146	0,091
P* (enzima)	0,533	0,745	0,772	0,999
P* (interação)	0,997	0,856	0,642	0,938
14 DIAS (n=80)				
AO	68,01±19,56	112,22±9,36	106,18±13,47	17,14±3,68
SB	72,70±24,80	122,65±12,78	98,89±10,26	17,17±5,40
GA	74,80±21,70	118,55±20,01	102,60±11,48	19,57±5,29
OS	76,9±22,80	120,05±19,87	105,27±12,60	20,64±5,48
Com enzima	68,76±20,14	117,66±15,72	102,52±9,47	17,52±4,81
Sem enzima	72,41±20,72	119,07±18,34	103,70±12,45	19,74±4,69
P* (óleos)	0,653	0,728	0,478	0,362
P* (enzima)	0,752	0,833	0,759	0,191
P* (interação)	0,5487	0,639	0,702	0,348
21 DIAS (n=80)				
AO	66,52±17,20	105,03±14,23	102,20±10,15	16,61±4,06
SB	66,62±22,76	103,45±15,19	105,04±12,20	17,43±4,41
GA	58,51±21,69	107,43±14,99	105,18±8,18	17,31±5,14
OS	70,10±19,20	107,11±17,13	106,66±12,11	19,30±5,61
Com enzima	67,19±20,18	106,43±16,81	102,96±9,08	16,97±4,69
Sem enzima	63,69±19,93	105,09±13,39	106,08±11,69	18,36±4,84
P* (óleos)	0,738	0,932	0,888	0,643
P* (enzima)	0,642	0,782	0,350	0,359
P* (interação)	0,469	0,743	0,396	0,512

OA: óleo ácido; SB: sebo bovino; GA: gordura de aves; OS: óleo de soja; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; mg: miligramas; dl: decilitro.

*Probabilidade: Não houve diferença estatística significativa para as variáveis avaliadas segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

O efeito da idade das aves sobre a concentração sérica de lipase encontra-se na (Figura 5). Houve diferença estatística aos 14 e 21 dias de idade quando comparada ao dia 1 e 7 ($p<0,05$).

FIGURA 5 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE LIPASE DE 1 A 21 DIAS DE IDADE INDEPENDENTE DO TRATAMENTO (MÉDIA±DESVIO PADRÃO) (n=280).



U: unidades enzimáticas; L: litro.

a, b, c Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Probabilidade: Houve diferença estatística significativa aos 14 e 21 dias de idade comparada ao dia 1 e 7 segundo o teste de Tukey com $p<0,01$.

Foi possível observar o aumento linear da concentração sérica de lipase nas aves jovens, sendo que na primeira semana de vida os valores aumentaram, porém não diferiram entre si. A partir do 14º dia de vida das aves os valores começaram a se diferenciar, demonstrando então que a atividade de lipase em aves jovens aumenta de acordo com a curva de crescimento da ave, como já foi descrito por, Wiseman e Salvador (1991), Moraes (2009), Carmo (2003).

Ao estudar os níveis de atividade enzimática da lipase em frangos de corte e aves de postura, Nir et al. (1993) observaram que estes foram muito baixos logo após eclosão, se elevando gradativamente com o passar da idade das aves, atingindo nível máximo aos 14 dias de idade se mantendo logo após esse período. Os autores comentam que durante a primeira semana de vida os frangos de corte consumiram uma quantidade diária de alimentos que atingiu 25 a 30% do seu peso corporal, ao qual foi duas vezes maior que o consumido pelas aves de postura. Essa grande ingestão refletiu na quantidade de conteúdo intestinal, que não foi compensada pelo aumento no tamanho do pâncreas e intestino delgado, nem pela atividade das enzimas digestivas. A

partir disso, pode-se concluir que, nos frangos de corte, uma secreção similar de enzimas digestivas teve que lidar com uma maior quantidade de quimo quando comparado com os pintos de postura. Sugere-se, portanto, que a suplementação da dieta do pinto recém-eclodido com enzimas digestivas de origem bacteriana ou fúngica deve ser mais efetiva para linhagens de corte.

Sakomura et al. (2004) avaliaram os efeitos da idade das aves sobre a atividade da lipase e digestibilidade de produtos provenientes da soja, e encontraram dados que demonstraram um efeito quadrático da idade sobre a atividade da lipase nos animais alimentados com mistura de farelo e óleo de soja. Lima et al. (2003) também verificaram um aumento da lipase pancreática conforme o avançar da idade dos animais.

A secreção de lipase é influenciada pela presença de lipídeo na dieta (KROGDHAL, 1985). O autor observou um aumento de dez vezes na concentração da enzima em frangos de corte quando ofereceu uma dieta contendo alta concentração de óleo em relação às aves que receberam baixo teor de gordura na dieta.

A influência da idade das aves na atividade de lipase é algo bem conhecido e estudado por pesquisadores, entretanto, Moraes et al. (2009) não encontraram um aumento linear da atividade da enzima, os autores observaram uma atividade enzimática maior no 1º dia de vida da ave, diminuindo ao 7º dia e atingindo pico máximo aos 14 dias de idade.

A atividade da lipase, assim como da tripsina e amilase está associada ao crescimento alométrico do pâncreas (SAKOMURA et al., 2004; ESCRIBANO, 1988; SELL et al., 1991; e NITSAN et al., 1991). Corroborando com tais informações, Sell et al. (1986) comentaram que a digestibilidade da gordura melhora com o avançar da idade, a medida que o aparato enzimático de frangos se encontra mais desenvolvido.

O efeito do uso das fontes lipídicas e enzima sobre a concentração sérica de lipase de 7 a 21 dias de idade encontra-se na (Tabela 14). Não houve diferença estatística para as variáveis analisadas ($p < 0,05$).

TABELA 11 - EFEITO DO USO DAS FONTES LIPÍDICAS E LIPASE EXÓGENA SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE LIPASE DE 7 A 21 DIAS DE IDADE (MÉDIA±DESVIO PADRÃO).

DIETA	7 DIAS (U/L) n=80	14 DIAS (U/L) n=80	21 DIAS (U/L) n=80
AO	8,38±1,10	10,2±1,90	17,82±3,77
SB	6,47±2,10	12,19±3,19	16,91±2,98
GA	7,79±2,90	12,59±3,51	16,27±3,10
OS	9,18±2,56	13,15±3,81	18,81±4,18
Com enzima	8,28±1,37	12,59±2,7	17,87±3,89
Sem enzima	7,62±1,45	11,72±2,46	17,03±3,48
P* (óleos)	0,0720	0,3460	0,7750
P* (enzima)	0,3950	0,4110	0,8080
P*(interação)	0,2679	0,4563	0,6278

OA: óleo ácido; SB: sebo bovino; GA: gordura de aves; OS: óleo de soja; U: unidades enzimáticas; L: litro.

*Probabilidade: Não houve diferença estatística entre os tratamentos segundo o teste de Tukey (p<0,05)

Polycarpo et al. (2014) avaliaram o efeito da inclusão de diferentes níveis e de fontes de gordura na dieta de frangos de corte, e observaram que a atividade enzimática era diretamente proporcional ao nível de inclusão na dieta. No entanto, no presente trabalho as rações utilizadas na fase de desempenho eram isoenergéticas, ou seja, com pouca variação no nível de inclusão das diferentes fontes de gordura, o que pode justificar a não diferença estatística de atividade de lipase para os diferentes tratamentos.

Os efeitos de enzimas exógenas em dietas para aves sobre a atividade enzimática endógena são frequentemente inconsistentes, Mahagna et al. (1995) explicam que diferenças nos tipos e quantidades de enzima exógena utilizada, bem como no desenho experimental de cada pesquisa, podem explicar em parte os resultados conflitantes e altamente variáveis descritos na literatura.

5.4 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

Os efeitos do uso da lipase e das diferentes fontes lipídicas sobre o desempenho zootécnico das aves estão apresentados na (Tabela 10).

Aos 14 dias houve diferença estatística para CA, no qual a GA apresentou melhor conversão quando comparada ao OS ($p<0,05$). O OA e o SB não diferiram dos demais tratamentos. Aos 21 dias (período total da fase de desempenho zootécnico), houve diferença estatística para CR e GP. As aves que receberam ração com SB tiveram maior CR em relação às aves que receberam dietas com OA e GA ($p<0,05$). Já os animais que receberam ração com OS tiveram CR semelhante aos demais. Os animais que receberam suplementação enzimática apresentaram ao final do experimento maior GP quando comparados aos animais que não receberam a suplementação ($p<0,05$).

TABELA 12 - EFEITO DO USO DAS FONTES LIPÍDICAS E LIPASE SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE AOS 14 E 21 DIAS DE IDADE (MÉDIA±DESVIO PADRÃO).

DIETA	PM (g)	CR (g)	GP (g)	CA (g/g)
14 dias (n=957)				
AO	453,64±25,59	361,36±21,00	264,25±20,32	1,253±0,120ab
SB	451,29±25,45	365,16±21,22	263,65±20,27	1,251±0,120ab
GA	462,92±26,11	359,63±20,89	266,51±20,49	1,228±0,117a
OS	452,12±25,50	355,65±20,66	252,78±19,44	1,371±0,131b
Com enzima	453,65±25,59	357,14±20,75	261,53±20,11	1,266±0,121
Sem enzima	456,33±25,74	363,75±21,13	262,07±20,15	1,285±0,123
P* (óleos)	0,6348	0,7169	0,3233	0,0326
P* (enzima)	0,7057	0,2735	0,9244	0,5968
P* (interação)	0,6173	0,0921	0,6125	0,1987
21 dias (n=876)				
AO	962,43±46,77	1116,4±57,38b	773,1±45,07	1,346±0,100
SB	957,11±46,52	1188,5±61,09 ^a	791,53±46,15	1,366±0,102
GA	967,51±47,02	1107,7±56,94b	771,1±44,96	1,305±0,097
OS	959,47±46,63	1135,2±58,35ab	760,13±44,32	1,386±0,103
Com enzima	967,94±47,04	1135,5±58,36	786,88±45,88a	1,341±0,100
Sem enzima	955,31±46,43	1138,3±58,51	761,05±44,37b	1,352±0,101
P* (óleos)	0,9467	0,0141	0,3466	0,3957
P* (enzima)	0,3322	0,874	0,0434	0,7231
P* (interação)	0,1080	0,9218	0,2450	0,1712

OA: óleo ácido; SB: sebo bovino; GA: gordura de aves; OS: óleo de soja; PM: peso médio, CR: consumo de ração; GP: ganho de peso; CA: conversão alimentar.

^{a, b} Médias seguidas por letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

*Probabilidade: Houve diferença estatística de 8-14 dias para CA para as diferentes fontes de gordura e de 8-21 dias para GP no uso da enzima e CR para diferentes fontes de gordura ($p<0,05$).

Ao testar óleo de soja, gordura de aves e sebo bovino em dietas de frangos de corte, Aznam (2005) encontrou grande diferença de CA para os animais suplementados com GA, apresentando uma CA 5,6% melhor que o OS e 13,9% melhor que o SB. Entretanto esse dado é bastante controverso na literatura, pois, diversos autores: Scaife (1994), Gaiotto (2000) e Newman (2002) encontraram resultados diferentes, citando o OS como o óleo com melhor CA.

Aznam (2005) ainda encontrou maior consumo de alimento no grupo alimentado com SB, assim como observado no presente estudo. Da mesma forma, Atteh e Leeson (1984;1995) e Scaife (1984) observaram aumentos significativos no consumo de alimento quando o SB foi suplementado na ração de frangos de corte. Gaiotto (2000) ao avaliar os efeitos do óleo de soja, óleo ácido de soja e do sebo bovino sobre o desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade não detectou diferenças estatísticas no CR, porém, foi possível observar um aumento no CR quando suplementados com SB. Desta forma, nossos dados corroboram com os obtidos pelos autores a cima e conclui-se que o SB é a melhor fonte de gordura para estimular o consumo alimentar das aves

Em nosso estudo quando avaliado o desempenho dos animais frente à utilização da enzima, foi possível observar uma melhora no ganho de peso das aves ao final do período experimental ($p < 0,05$). O mesmo resultado foi observado por Zanella (1999) e Garcia (1997) que reportaram um aumento de 1,9% e 5% respectivamente no GP de aves suplementadas com complexo enzimático em dietas a base de milho e farelo de soja. Em dois trabalhos similares, Meng (2004) e Slominski (2006), apesar de não encontrarem diferenças estatísticas, também puderam observar melhores resultados no ganho de peso de aves suplementadas com Lipase microbiana de 1 a 21 dias de idade.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a concentração sérica de lipase em aves jovens se dá de forma crescente ao longo das primeiras semanas de vida do animal. A suplementação de lipase promove o crescimento e desenvolvimento das aves no período inicial sem alterar o tamanho dos órgãos, o perfil lipídico sanguíneo e a produção da enzima endógena. In vitro, a lipase exógena proveniente de microrganismos do gênero *Aspergillus* sp demonstrou maior atividade quando associada ao sebo bovino.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido a divergência de resultados entre a análise *in vitro* e *in vivo*, sugere-se novos estudos que visem entender a afinidade das lipases comerciais frente às diferentes características físico-químicas dos ácidos graxos, assim como, avaliar as diferenças funcionais entre lipases exógenas e endógena.

Além disso, sugere-se novas pesquisas que correlacionem a adição da lipase exógena com emulsificantes, tendo em vista que na fase inicial, os frangos de corte, além da baixa concentração de lipase apresentam uma insuficiente síntese de bile, o que é essencial para o processo de emulsificação dos lipídeos.

REFERÊNCIAS

- ALAO, S.J.; BALNAVE, D. Nutritional significance of different fat sources for growing broilers. **Poultry Science**, v.64, p.1602-1604, 1985
- AL-MARZOOQI, W.; LEESON, S. Effect of dietary lipase enzyme on gut morphology, gastric motility, and long-term performance of broiler chicks. **Poultry Science**, v.79, p.956-960, 2000.
- ANDRADE, T. S.; NUNES, R. V.; SILVA, I. M.; WACHHOLZ, L. FASCINA, V. B. Performance and physiological parameters in broilers fed different enzyme complex. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v.38, n.4, p.2765-2774, 2017.
- ANDREOTTI, M.O. **Valor nutricional de diferentes fontes lipídicas para frangos de corte**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária -UNESP, Jaboticabal, 2002.
- ANGEL, R.; SORBARA, J. O. B. Why is it important to understand substrates if we are to optimize exogenous enzyme efficacy? **Poultry Science**, v.93, p.2375–2379, 2014.
- ARAUJO, J. M. A. **Química de Alimentos, Teoria e Prática**. 4 ed. Editora UFV, p.596, 2008.
- ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. Official and tentative methods of analysis, 16.ed. Arlington, Virginia: **AOAC International**, 1995.
- ATTEH, J.O., LEESON, S.: Effects of dietary saturated or unsaturated fatty acids and calcium levels on performance and mineral metabolism of broiler chicks. **Poultry Science**, v.63, p.2252-2260, 1984.
- AZNAM, M. A.; ÇERCI, I. H.; BIRBEN, N. Effects of various dietary fat sources on performance and body fatty acid composition of broiler chickens. **Turk J. Vet. Animal Science**. Turquia, v.29, p.811-819, 2005.
- BARLETA, A. Current market and expected developments. In: BEDFORD M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2° ed, Londres: CAB international, p. 1-12, 2011.
- BELLAVER, C.; ZANOTTO, D. L. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos protéicos de origem animal. Palestra apresentada na Conferência **APINCO FACTA**. Santos, 2004.
- BLANCH, A.; BARROETA, A. C.; BAUCCELLS, M. D.; PUNCHAL, F. The nutritive value of dietary fats in relation to their chemical composition. Apparent fat availability and metabolizable energy in two-week-old chicks. **Poultry Science**, v.74, n.8, p.1335-1340, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 795 de 15 de Dezembro de 1993. Aprova as normas de identidade, qualidade, embalagem, marcação e apresentação do óleo de soja e do farelo de soja. **Diário Oficial da União**. Brasília, 20 de dezembro de 1993. Disponível em: [Http://www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). Acesso em: 26 de março de 2018.

BRAGA, J. P.; BAIÃO, N. C. Suplementação lipídica no desempenho de aves em altas temperaturas. **Cad. Tec. Vet. Zootec.**, n.31, p.23-28, 2001.

BROCKMAN, H. L. General features of lipolysis: reaction scheme, interfacial structure and experimental approaches. In: **BORGSTROM, B.; BROCKMAN, H. L. (Ed.). Lipases**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984. p. 1-46.

BUENO, T. **Obtenção de concentrados de ácidos graxos poli-insaturados por hidrólise enzimática do óleo de soja**. Dissertação. (Mestrado). Engenharia Química, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, p.102, 2005.

CANTY, D. J.; ZEISEL, S. H. Lecithin and choline in human health and disease. **Nutrition Reviews**, v.52, n.10, p.327-340, 1994.

CAREW LB, MAGHEMER JR RH, SHARP JR RW. Fat absorption by the very young chick. **Poultry Science**. v.3, p.738-742, 1972.

CARMO, H. M.; MORAES, G. H. K.; FREITAS, H. T. et al. Development of pâncreas lipase and a-amylase of chickens from birth to 21 days of age. In: **Reunião Annual da Sociedade Brasileira de Bioquímica**. Anais... São Paulo, p.140, 2003.

COSTANZO, L. S. **Fisiologia / Linda S. Costanzo**. 5. Ed. Rio de Janeiro. Elsevier, 2014.

CUNHA, M. E. **Caracterização de biodiesel produzido com misturas binárias de sebo bovino, óleo de frango e óleo de soja**. Dissertação. (Mestrado). Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p.65, 2008.

DHARNE, H. V. Maintaining gut integrity. **Avitech Technical Bulletin**, Jan, 2007.

DRACKLEY, J. K. Lipid Metabolism. In: D'MELLO, J. P. F. (Ed.). cap. 5. **Farm Animal Metabolism and Nutrition**. Edinburg: The Scottish Agricultural College, p.97-119., 2000.

DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 12ª Ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2006.

ESCRIBANO, F.; RAHN, B. E.; SELL, J. L. Development of lipase activity in yolk membrana and pâncreas of Young turkeys. **Poultry Science**, v.67, p.1089-1097, 1988.

FASCINA, B. V. **Valor energético, desempenho, lipídios séricos e composição corporal de frangos de corte recebendo óleo de soja e sebo bovino em diferentes combinações**. Dissertação (Mestrado) Campo Grande (MS), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, p. 16 – 37., 2007.

FERREIRA, J. M.; SOUZA, R. V.; BRAGA, M. S. et al. Efeito do tipo de óleo adicionado à dieta, sobre o teor colesterol em partes da carcaça de frangos de corte de acordó com sexo e linhagem. **Revista ciencia e tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 19, p. 189 – 193, 1999.

FURLAN, R. L.; MACARI, M. Lipídios: digestão e absorção. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002.

FREEMAN, C. P. The digestion, absorption and transport of fats – non ruminants. In: WISEMAN, J. (Ed.). **Fats in animal nutrition**. London: Butterwords, p. 105-122., 1984.

FREITAS, B.C.F.; BAIÃO, N.C.; NUNES, I.J. et al. Efecto del aceite de soya sobre la performance inicial de los pollos de carne. In: **CONGRESSO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA**, 16., Lima: 1999. p.360-363

FREITAS, E. R.; SAKOMURA, N. Z.; NEME, R.; SANTOS, A. L. Valor energético do óleo ácido para aves. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.3, p241-246., 2005.

GANDHI, N. N. Applications of lipases. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.74, n.6, p.621-634, 1997.

GHALY, A. E.; DAVE, D.; BROOKS, M. S.; BUDGE, S. Production of biodiesel by enzymatic transesterification: review. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, NewYork, v. 6, p. 54-76, 2010.

GAIOTTO, J. B.; MENTEM, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C. Óleo de soja, óleo ácido de soja e sebo bovino como fontes de gordura em rações para frangos de corte. **Revista brasileira de ciência avícola**, Campinas, v. 2, p. 219 – 227, 2000.

GARCIA, O. Enzimas: recentes contribuições para a sua aplicação em nutrição animal. In: ENCONTRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, **Anais...** São Paulo, p.1-9, 1997.

HALLDORSSON, A., KRISTINSSON, B., HARALDSSON, G. G. Lipase Selectivity toward fatty acids commonly found in fish oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**. v,106, p79-87, 2004.

JUNQUEIRA, O. M.; ANDREOTTI, M. O.; ARAÚJO, L. F. et al. Valor energético de algumas fontes lipídicas determinado com frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Jaboticabal, v.34, n.6, p.2335-2339, 2005.

KERR, B. J.; KELLNER, T. A.; SHURSON, G. C. Characteristics of lipids and their feeding value in swine diets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6 p. 1-23, 2015.

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

LARA, L. J. C. et al . Effect of lipid sources of diets on broiler performance. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte , v. 57, n. 6, p. 793-798, 2005.

LARA, L. J. C. **Efeito da fonte lipídica em dietas para frangos de corte, sobre o desempenho, rendimento e composição da carcaça**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 50p., 2005.

LARA, L. J. C.; BAIÃO, N. C.; AGUILAR, C. A. L. et al. Rendimento, composição e teor de ácidos graxos de carcaça de frangos de corte alimentados com diferentes fontes lipídicas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.108-115, Belo Horizonte, 2006.

LARSEN, R. P.; KRONENBERG, H. M.; MELMED, S.; POLONSKY, K. S. Distúrbios do metabolismo de lipídios. In: **Williams tratado de fisiologia endócrina**. Rio de Janeiro. Elsevier, 2010.

LECZNIESKI, J. L. Considerações práticas do uso de enzimas. In: Seminário internacional de aves e suínos **AVESUI**, Florianópolis, 2006.

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

LEESON, S., ATTEH, J.O.: Utilization of fats and fatty acids by turkey poult. **Poultry Science**, v.74, p.2003-2010, 1995.

LIMA, A. C. F.; JÚNIOR, J. M. P.; MALHEIROS, E. B. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.1, 2003.

LINFIELD, W. M., O'BRIEN, D. J., SEROTA, S., BARUSKAS, R. A.- Lipid-lipase interactions 1. Fat splitting with lipase from *Candida rugosa* , **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 61, n. 6, p. 1067-1071, 1984.

LIPSTEIN, B.; BORNSTEIN, S. Lack of interference between dietary acidulated soybean soapstock and calcium in chicks and laying hens. **Poultry Science**; v. 47., 1968.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frango de corte**. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2002.

MACARI, M.; MAIORKA, A. **Fisiologia das aves comerciais**. Jaboticabal: FUNESP, 2017.

MAHAGNA, M.; NIR, I.; LARBIER, M.; NITSAN, Z. Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks. **Reproduction Nutrition Development**, v.35, p.201-212, 1995.

MATTERSON, L. D., et al. **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Storrs: The University of Connecticut, Agricultural Experiment Station, p.11, 1965.

MENG, X.; SLOMINSKI, B. A.; GUENTER, W. The effect of fat type, carbohydrase, and lipase addition on growth performance and nutrient utilization of young broilers fed wheat-based diets. **Poultry Science**, p1718-1727, 2004.

MESSIAS, J. M.; COSTA, B. Z.; LIMA, V. M. G. et al. Lipase Microbianas: produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. **Seminário Ciências exatas e tecnológicas**, Londrina, v.32, n2. p. 213-234, 2011.

MORAES, G. H. K.; RODRIGUES, A. C. P.; OLIVEIRA, M. G. A. et al. Perfil Enzimático de a-amilase, lipase e tripsina do pâncreas e crescimento do fígado, intestino e pâncreas de frangos de corte na fase de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa. V.38, n.11, p.2188-2192, 2009.

MORITA, M. M. Custo x Benefício do uso de óleos e gorduras em rações avícolas. In: **Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas**, Santos, p.29-35, 1992.

MURATA, L. S.; ARIKI, J.; MACHADO, C. R. Efeitos de fontes de óleo sobre alguns parâmetros lipídicos do sangue de poedeiras comerciais. In: **Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola**. Campinas, p.27, 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. – NRC. Nutrient requirements of poultry. Washington, D.C., **National Academy Press**, Ninth Revised Edition, p.45, 62 – 64, 1994.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lipídios. In: **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2011. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NETO, A. C. G. **Efeito da ação de emulsificante em diferentes fontes de gordura da dieta sobre o desempenho e variáveis fisiológicas em frangos de corte.** Dissertação (Mestrado). Campus Botucatu – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p.64, 2005.

NEWMAN, R., E., BRYDEN, W.L., FLECK, E., et al. Dietary n-3 and n-6 fatty acids alter avian metabolism: molecular- species composition of breast-muscle phospholipids. **British Journal of Nutrition**, Londres, v.88, p.11-18, 2002.

NIR, I.; NITZAN, Z.; MAHAGNA, M. Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching. **British Poultry Science**, London, v.34, p. 523-532, 1993.

NIR, I.; NITSAN, Z.; DVORIN, A.; ZOREF, Z.; MOKADI, S. Fat supplementation to poultry diets. **World Poultry Misset**, v. 11, n 10. p. 57-58, 1995.

NITSAN, Z.; EM-AVRAHAM, G.; ZOREF, Z. et al. Growth and development of digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, v.32, p.515-523, 1991.

OLIVEIRA, R. S. **Suplementação de nutracêutico (LECIPALM®) e vitamina E para frangos de corte: desempenho zootécnico e metabolismo.** Dissertação. (Mestrado). Setor Ciências Agrárias Universidade Federal do Paraná, Curitiba.108p.,2009.

PANDEY, A.; BENJAMIN, S.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; KRIEGER, N.; SOCOOL, V. T. The realm of microbial lipases in biotechnology. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, Duluth, v. 29, p. 119-131, 1999.

PHAN, C. T.; TSO, P. Intestinal lipid absorption and transport. **Frontiers in Bioscience**, v.6, p.299-319, 2001.

POLYCARPO, G. V.; CRUZ, V. C.; ALEXANDRE, N. C. et.al. Effect of lipid sources and inclusion levels in diets for broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.519-528, 2014.

POULTRYHUB. **Physiology**. Disponível em:
<<http://www.poultryhub.org/physiology/body-systems/>>

RABER, M. R.; RIBEIRO, A. M. L.; KESSLER, A. M. et al. Desempenho, metabolismo e níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos em frangos de corte alimentados com óleo ácido e óleo de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.6 p730-1736, 2008.

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

RAVINDRAN, V.; TANCHAROENRAT, P.; ZAEFARIAN, F.; RAVINDRAN, G. Fats in poultry nutrition: digestive physiology and factors influencing their utilisation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 213 p. 1-21, 2016.

REINEHR, C. O.; RIZZARDI, J.; SILVA, M. F. et al. Produção de lipase de *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* através de fermentação em estado sólido, avaliação da especificidade do substrato e seu uso em reações em esterificação e alcoólise. **Química Nova**, v37, n.3, p.454-460, São Paulo, 2014.

ROCHA, C. **Qualidade do óleo de soja e adição de vitamina na ração de perus**. – Curitiba. Dissertação. (Mestrado) Setor Ciências Agrárias – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 76p. 2010.

ROCHA, C; MAIORKA, A. Lipídios: digestão e absorção. In: MACARI, M.; MAIORKA, A. **Fisiologia das aves comerciais**. Jaboticabal: FUNEP, 2017.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos. 3ª edição, Viçosa, MG: UFV, 252 p., 2011.

SAKOMMURA, N, K., BIANCHI, M. D.; PIZZAURO JR. J, M. et al. Efeito da idade dos frangos de corte sobre a atividade enzimática e digestibilidade dos nutrientes do farelo de soja e da soja integral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.4, p.924,935, 2004.

SAXENA, R. K.; DAVIDSON, W. S.; SHEORAN, A.; GIRI, B. Purification and characterization of an alkaline thermostable lipase from *Aspergillus carneus*. **Process Biochemistry**, London, v. 39, p. 239-247, 2003.

SCAIFE, J.R., MOYO, J., GALBRAITH, H., et al. Effect of different dietary supplemental fats and oils on the tissue fatty acid composition and growth of female broilers. **British Poultry Science**, Londres, v.35, p. 107-118, 1994.

SCHNEIDER, G. L.; **Emulsificantes em dietas iniciais com diferentes fontes lipídicas para frangos de corte**. – Curitiba,. Dissertação (Mestrado) Setor Ciências Agrárias – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, p.58, 2012.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, New York ,v. 19, p. 627-662, 2001.

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

SELL, J. L.; ANGEL, C. R.; PIQUER, F. J. et al. Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. **Poultry Science**, v.70, p.1200-1205, 1991.

SIBBALD, I. R.; SLINGER, S. J. A biological assay for metabolizable energy in feed ingredients together with finding which demonstrate some of the problems associate with the evaluation of fats. **Poultry Science**, London, v.42, p.313-325, 1963.

SILVA, J. V. F. **Produção e avaliação da estabilidade de enzimas fúngicas**. Trabalho de Conclusão de Curso. Campus de Araraquara - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, p.72, 2013.

SLOMINSKI, B. A.; MENG, X.; JIA, W.; GUENTER, W.; JONES, O. The effect of lipase, amylase and protease addition on growth performance and nutrient digestion in Young broiler chickens. European Poultry Conference, Italy, 10-14, 2006.

SMITH, J. L., ALFORD, J. A. Inhibition of microbial lipase by fatty acids. **Applied Microbiology**. American Society for Microbiology. Maryland, v.14, v.5, p.699, 1966.

STUER, W.; JAEGER, K. E.; WINKLER, U. K. Purification of extracellular lipase from *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Bacteriology, p.1070-1074, 1986.

SVIHUS, B.; HETLAND, H.; CHOCT, M.; SUNDBY, F. Passage rate through the anterior digestive tract of broiler chickens fed on diets with ground or whole wheat. **British Poultry Science**, London, v. 43, p. 662–668, 2002.

VASCONCELLOS, C. H. F.; FONTES, D. O.; BAIÃO, N. C.; VIDAL, T. Z. B.; CORRÊA, G. S. S.; SILVA, M. A. Enzimas exógenas para frango de corte. **Engormix**, 2011.

WISEMAN, J.; SALVADOR, F. Influence of age, chemical composition and rate of inclusion on the apparent metabolizable energy of fats fed to broiler chicks. **British Poultry Science**, London, v.30, n. 3, p. 653-66, 1991.

WORTHINGTON, C. C. **Manual of Clinical Enzyme Measurements**. Worthington Biochemical Corporation, New Jersey p. 246, 1972.

ZAIDI, A.; GAINER, J. L.; CARTA, G. et al. Esterification of fatty acids using nylon-immobilized lipase in *n*-hexane: kinetic parameters and chain-length effects. **Journal of Biotechnology**, v.93, p.209-216, 2002.

ZANELLA, I.; SAKOMURA, N.K.; SILVERSIDES, F.G. et al. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. **Poultry Science**, v.78, n.4, p.561-568, 1999.

ZOOLISTICH, W.; KRAUSS, W.; AICHINGER, F. et al. Effects of different dietary fat sources of performance and carcass characteristics of broiler. **Animal Feed Science Technology**, Califórnia, v.66, p. 63-73, 1997.

ANEXOS

ANEXO 1 - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO EXPERIMENTAL DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 043/2017, referente ao projeto “**IMPACTOS FISIOLÓGICOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMULSIFICANTE E LIPASE EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE DE 0 A 24 DIAS**”, sob a responsabilidade de **Ana Vitória Fischer da Silva** – 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 – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 1 de invasividade, em reunião de 02/06/2017.

Vigência do projeto	Agosto/2017
Espécie/Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> (ave) / Cobb 500
Número de animais	1170
Peso/Idade	50 g / 1 dia
Sexo	Macho
Origem	BRF – Brasil Foods S.A

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 043/2017, regarding the project “**PHYSIOLOGICAL IMPACT OF SUPPLEMENTATION OF EMULSIFIER AND LIPASE IN POULTRY DIETS FROM 0 TO 24 DAYS**” under **Ana Vitória Fischer da Silva** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 1 of invasiveness, in session of 06/02/2017.

Duration of the project	August/2017
Specie/Line	<i>Gallus gallus domesticus</i> (bird) / Cobb 500
Number of animals	1170
Weight/Age	50 g / 1 day
Sex	Male
Origin	BRF – Brasil Foods S.A

Curitiba, 2 de junho de 2017.

Chayane da Rocha

Coordenadora CEUA-SCA