

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel**  
**Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**



**Tese**

**Utilização de microalgas (*Schizochytrium* sp) como fonte rica em ácido graxo docosaheptaenóico na dieta de poedeiras**

**Verônica Lisboa Santos**

**Pelotas, 2016**

**Verônica Lisboa Santos**

**Utilização de microalgas (*Schizochytrium* sp) como fonte rica em ácido graxo docosahexaenóico na dieta de poedeiras**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (Área de conhecimento: Nutrição de não ruminantes).

Orientador: Prof. *Ph.D.* Fernando Rutz

Co-Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Anciuti

Pelotas, 2016

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

S237u Santos, Verônica Lisboa

Utilização de microalgas (*Schizochytrium sp*) como fonte rica em ácido graxo docosahexaenoico na dieta de poedeiras / Verônica Lisboa Santos ; Fernando Rutz, orientador ; Marcos Antonio Anciuti, coorientador. — Pelotas, 2016.

117 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2016.

1. Algas. 2. Desempenho. 3. DHA. 4. Imunidade. 5. ômega-3. I. Rutz, Fernando, orient. II. Anciuti, Marcos Antonio, coorient. III. Título.

CDD : 636.5

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

**Banca examinadora:**

Prof. *Ph.D.* Fernando Rutz (Presidente) – UFPel, FAEM, DZ.

Prof. Dr. Jerri Teixeira Zanusso – UFPel, FAEM, DZ.

Prof. Dr. João Carlos Maier – UFPel, FAEM, DZ.

Prof. Dr. Gilberto D'Avila Vargas – UFPel, FVet.

Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Dra. Mônica Daiana de Paula Peters– IFSul *campus* Visconde da Graça

À minha mãe, Nadir, dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela vida, por estar presente, cuidadosamente, em todos os momentos, me encorajando a prosseguir.

À minha mãe, por sempre primar por minha educação, por maiores que tenham sido os sacrifícios feitos, por nunca ter desistido, nunca ter me deixado desistir e por sempre me cercar com tanto amor e carinho, minha eterna gratidão!

Aos meus primos, que se fizeram irmãos, “desde sempre”. Aqui não citarei nomes, pela certeza de que ao lerem, saberão quem os são.

Aos familiares e amigos que entenderam ou, simplesmente, respeitaram o fato de que, pelo menos, dois meses antes da qualificação para o doutorado e dois meses antes da defesa desta Tese, visitas à minha casa “não eram estimuladas” e os telefones estavam desligados.

Ao meu orientador, desde o mestrado, professor Fernando Rutz. Minha gratidão por ter me ensinado muito além da fisiologia e nutrição animal. Obrigada pelos exemplos de simplicidade e generosidade. Tenho um orgulho imenso em dizer que fui sua aluna e orientada! Muito obrigada!

Ao meu co-orientador, também, desde o mestrado, professor Marcos Ancuti, por toda a ajuda, pela mão estendida sempre que eu precisei, mas, não sei se encontraria palavras que pudessem dimensionar minha gratidão, então, torço para que um dia eu possa fazer a outras pessoas tudo o que fez por mim. Obrigada por tudo!

Ao professor João Carlos Maier que, em 2006, me encaminhou para o primeiro estágio na área de nutrição animal. Obrigada, professor por estar presente do início ao fim deste ciclo!

Ao professor Jerri Teixeira Zanusso, por literalmente “parar, me escutar e aconselhar” quando pedi ajuda, antes de entrar para o mestrado, minha gratidão!

À Prof.<sup>a</sup> Fabiane Gentilini por ter carinhosamente me acolhido sem mesmo me conhecer, por ter estado sempre pronta a me ajudar! Aprendi muito contigo Fabiane e serei eternamente grata!

À Prof.<sup>a</sup> Fernanda Gonçalves, por ter sempre uma palavra de incentivo, pela confiança, carinho e amizade!

À Médica Veterinária Juliana Klug Nunes, pela paciência, amizade e carinho!

À Cristiéle Contreira, pela dedicação e comprometimento com este projeto. Cristiéle, sem a tua ajuda, a realização deste experimento teria sido, no mínimo, muito mais difícil. Obrigada!

À Naiana Manzke, pela amizade e companheirismo! Obrigada pela certeza de sempre poder contar contigo e saber que sempre estavas/estarás “ali”, mesmo que o “ali” signifique quilômetros de distância! Será sempre recíproco!

Ao chefe do aviário Sergio Leandro de Ávila, (Wazowski) pela disposição em ajudar, mas, principalmente, pela amizade e bom humor, mesmo nos dias mais difíceis!

Aos funcionários do aviário: Casquinha, Henri, Lincoln, Maurício e Robinho por toda ajuda durante o experimento.

A Embrapa Clima Temperado, em especial ao pesquisador Dr. João Pedro Zabaleta pelo empréstimo de equipamentos que possibilitaram a preparação das amostras para realização das análises cromatográficas.

Aos Técnicos em Laboratório da Faculdade de Química /UFPel: Marco Aurélio Ziemann dos Santos e Cristiane Barsewisch Hobuss, pela ajuda na realização das análises cromatográficas.

Ao Diretor da Faculdade de Veterinária da UFPel, Prof. Dr. Gilberto D'Ávila Vargas, por autorizar o uso das instalações do Laboratório de Virologia para a realização do teste ELISA e ao Prof. Dr. Geferson Fischer pelo auxílio dado durante a realização do teste.

Aos colaboradores Cássia, Inácio, Tiago e Yasmin, pela dedicação e ajuda com este projeto!

A CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade e aprendizado.

À Universidade Federal de Pelotas, pela formação profissional.

*“Animal Experimental: sob o nosso controle, ele cresce, depende e confia. Respeito haja, enquanto vivo, pois não será em vão seu sacrifício”.*

*Ivan B. M. Sampaio*



## RESUMO GERAL

SANTOS, Verônica Lisboa. Utilização de microalgas (*Schizochytrium* sp) como fonte rica em ácido graxo docosahexaenóico na dieta de poedeiras 2016. 117 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.

O baixo consumo de alimentos fontes de ácidos graxos poli-insaturados ômega -3, como peixes, seja pelos preços elevados ou questões culturais, principalmente na população ocidental, é considerado muito inferior aos recomendados pelas agências internacionais. No intuito de aumentar a disponibilidade de alimentos que sejam fontes destes nutrientes à população, diversas pesquisas vêm sendo realizadas visando o enriquecimento de ovos, visto que, são fonte de proteínas, gorduras e micronutrientes que desempenham um papel importante na nutrição humana e sua composição lipídica é alterada sensivelmente, de acordo com a manipulação da dieta da poedeira. Diante deste cenário, novas fontes de ácidos graxos poli-insaturados ômega - 3 ganham força neste mercado, como as microalgas marinhas. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de um produto comercial, elaborado a base de microalgas marinhas do gênero *Schizochytrium*, na dieta de poedeiras sobre o desempenho produtivo, resposta imunológica, qualidade e análise sensorial dos ovos, bem como, perfil lipídico das gemas. Um total de 192 poedeiras da linhagem Isa *brown*, com 30 semanas de idade, foram mantidas em gaiolas de postura, sendo três aves/gaiola, o que constituiu a unidade experimental, totalizando 64 unidades experimentais. Durante 126 dias experimentais, divididos em seis ciclos produtivos, de 21 dias cada, as aves receberam quatro tratamentos dietéticos, sendo: T1: controle (milho e farelo de soja), sem adição de microalgas; T2: T1 + microalgas (0,5%); T3: T1+ microalgas (1,0%) e, T4: T1+ microalgas (2,0%), sendo 16 repetições/tratamento em um delineamento ao acaso. As aves foram vacinadas contra a doença de Newcastle e submetidas à coleta de sangue para avaliação da série leucocitária total e diferencial e soro, para a realização do teste de imunidade humoral. A avaliação do perfil lipídico das gemas foi realizada através de cromatografia gasosa e a análise sensorial através do teste de comparação múltipla. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial. Não houve efeito significativo dos tratamentos sobre as variáveis de desempenho produtivo, resposta imunológica das aves, qualidade e características sensoriais dos ovos. O perfil lipídico das gemas foi alterado de acordo com os tratamentos. Foi

observado efeito quadrático, inesperado, na concentração de ácido mirístico, sendo o maior teor atribuído às gemas dos ovos das aves que receberam 0,5% de microalgas nas dietas; aumento no teor do ácido graxo poli-insaturado docosahexaenóico (ômega-3, DHA), de acordo com o aumento dos níveis de algas na dieta, diminuição na relação entre os ácidos graxos araquidônico e DHA e diminuição na relação entre os ácidos graxos ômega-6 e ômega - 3 de acordo com o aumento da inclusão de microalgas às dietas. Com base nestes dados, a inclusão de microalgas em dietas de poedeiras pode aumentar o teor de DHA nas gemas, sem interferir na qualidade e características sensoriais dos ovos, desempenho e resposta imunológica das aves, constituindo-se em uma fonte alternativa de ácidos graxos poli-insaturados da série ômega - 3 à população.

**Palavras-chave:** algas; desempenho; DHA; imunidade; ômega-3; ovos; produção

## ABSTRACT

SANTOS, Verônica Lisboa. **Using of a microalgae (*Schizochytrium sp*) as a rich source of docosahexaenoic fatty acid in the diet of laying hens.** 2016. 117f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.

Low omega 3 PUFA consumption by population, for price (high fish price) or for cultural reasons, mainly in the eastern side of the world is a reality. Several studies have been conducted to enrich eggs in omega 3 PUFA to provide those nutrients to human population. Algae-derived omega 3, from *Schizochytrium sp* has been one of the alternatives to enrich eggs. Therefore, this study aimed to investigate the effect of a DHA-enriched algae product, on productive performance, immune status of layers, sensory evaluation and fatty acid profile of yolk eggs. A total of 192 30-week old Isa Brown layers allocated in cages (3 birds/cage), in a total of 16 replicates per treatment in a completely randomized design was used. During 126 days of experimental period, split into 6 productive cycles of 21 days each one of them, the birds received 4 dietary treatments: T1 – control (corn and soybean meal); T2: T1 + microalgae (0,5%); T3 – T1+ microalgae (1,0%) and T4 – T1+ microalgae (2,0%). Birds were vaccinated against Newcastle virus and underwent blood collection to evaluate total and differential leukocyte count. The fatty acid profile was obtained using gas chromatography and the sensory evaluation was analyzed using a multiple comparison test. Data were analyzed using variance and polynomial regression analysis. Productive performance, immune response, egg quality and sensory evaluation were not statistically influenced by dietary treatments. The yolk fatty acid profile was altered according to dietary treatments. An unexpected quadratic effect was observed for myristic acid, in which a higher level was attributed to yolks from hens that received 0,5% microalgae in the diets; increase in DHA omega 3 fatty acids and a decrease in the omega 6:omega 3 fatty acid ratio was observed as microalgae levels increased in the diets. These results indicate that the inclusion of microalgae in layer diets may increase yolk DHA content, without influencing egg quality, sensory evaluation, performance and immune response. Therefore, it may be considered a DHA-enriched egg for the population.

Keywords: algae; performance; DHA; immunity; omega-3; eggs; production;

## LISTA DE FIGURAS

### ARTIGO I

Figura 1. Metabolismo dos ácidos graxos ômega-6 e ômega-3.....50

### ARTIGO III

Figura 1. Efeito dos níveis de inclusão de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp sobre a concentração de ácido mirístico nas gemas..... 110

Figura 2. Efeito dos níveis de inclusão de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp sobre o conteúdo de DHA nas gemas ..... 111

Figura 3. Razão entre os ácidos graxos araquidônico e docosahexaenóico de acordo com os níveis de inclusão de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp nas dietas ..... 112

Figura 4. Razão entre os ácidos graxos  $\omega$  6:  $\omega$  3 de acordo com os níveis de inclusão um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp nas dietas ..... 113

Figura 5. Média dos atributos sensoriais dos ovos de acordo com os níveis de inclusão de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp ..... 114

## LISTA DE TABELAS

### RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO

- Tabela 1. Composição e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais.... 38
- Tabela 2. Quantidades utilizadas de sal (NaCl) para obtenção das densidades específicas desejadas ..... 42

### ARTIGO I

- Tabela 1. Conteúdo de AG's  $\omega$ 3, especificamente EPA e DHA em peixes brasileiros de água doce e em peixes marinhos (% de peso de quantidade total de ácidos graxos ..... 52
- Tabela 2. Recomendação de ingestão diária dos AGPI  $\omega$ -6 e  $\omega$ -3 segundo diferentes agências internacionais ..... 56

### ARTIGO II

- Tabela 1. Composição e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais.... 80
- Tabela 2. Média das variáveis de desempenho produtivo de aves alimentadas com diferentes níveis de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp ..... 81
- Tabela 3. Perfil hematológico de poedeiras suplementadas com diferentes níveis de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp ..... 82
- Tabela 4. Média da imunidade humoral de poedeiras alimentadas com diferentes níveis de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp na dieta, de acordo com o método ELISA ..... 83

### ARTIGO III

- Tabela 1. Composição e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais.. 107

Tabela 2. Média das variáveis de qualidade dos ovos para cada nível de inclusão de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp nas dietas das aves ..... 108

Tabela 3. Perfil dos ácidos graxos, em porcentagem, nas gemas dos ovos de aves alimentadas com diferentes níveis de inclusão de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp nas dietas ..... 109

## SUMÁRIO

1 Introdução geral .....	18
2 Projeto de pesquisa.....	20
2.1 Equipe .....	20
2.2 Caracterização do problema .....	21
2.3 Objetivos e metas.....	25
2.3.1 Objetivos gerais.....	25
2.3.2 Objetivos específicos.....	25
2.3.3 Metas.....	26
2.4 Metodologia e estratégia de ação .....	26
2.5 Resultados e impactos esperados .....	28
2.6 Cronograma .....	29
2.7 Riscos.....	30
2.8 Dificuldades.....	30
2.9 Aspectos éticos .....	30
2.10 Referências bibliográficas .....	31
3 Relatório do trabalho de campo .....	36
3.1 Local.....	36
3.2 Período experimental .....	36
3.3 Animais.....	36
3.4 Instalações .....	36
3.5 Programa de luz.....	37
3.6 Dietas experimentais.....	37
3.7 Delineamento estatístico .....	38
3.8 Práticas de manejo.....	39
3.9 Manejo dos ovos .....	39
3.10 Variáveis resposta e coleta de dados.....	39

3.10.1. Desempenho produtivo .....	39
3.10.1.1 Peso corporal .....	39
3.10.1.2 Consumo de ração .....	40
3.10.1.3 Produção de ovos.....	40
3.10.1.4 Conversão alimentar por dúzia de ovos .....	40
3.10.1.5 Conversão alimentar por massa de ovos .....	41
3.10.2 Qualidade dos ovos.....	41
3.10.2.1 Peso dos ovos .....	41
3.10.2.2 Gravidade específica.....	41
3.10.2.3 Peso da casca .....	42
3.10.2.4 Espessura da casca .....	43
3.10.2.5 Cor da gema.....	43
3.10.2.6 Altura do albúmen .....	43
3.10.2.7 Massa dos ovos .....	43
3.10.2.8 Unidade <i>Haugh</i> .....	43
3.10.2.9 Peso do albúmen .....	44
3.10.2.10 Peso da gema .....	44
3.11 Análise do perfil lipídico das gemas .....	44
3.11.1 Extração lipídica .....	44
3.11.2 Metilação .....	45
3.12 Análise sensorial .....	46
3.13 Parâmetros imunológicos .....	46
3.13.1 Avaliação da imunidade humoral .....	47
3.13.2 Contagem total e diferencial de leucócitos.....	47
3.14 Resistência óssea .....	48
3.15 Análise estatística .....	48
3.16 Resultados .....	48



4 Artigo I – Artigo de revisão.....	49
4.1 Resumo .....	49
4.2 Abstract .....	49
4.3 Introdução .....	49
4.4 Lipídeos.....	50
4.5.Ácidos graxos essenciais .....	51
4.6 Fontes .....	51
4.6.1 Linhaça .....	50
4.6.2 Óleo e farinha de peixe .....	51
4.6.3 Algas .....	52
4.7 Ovos enriquecidos .....	53
4.8 Ácidos graxos de cadeia longa e a importância para a saúde humana .....	54
4.9 Razão entre os ácidos graxos ômega 6 e ômega 3 e a recomendação diária de ingestão (RDI) .....	55
4.10 Ovos enriquecidos com $\omega$ -3 e a legislação .....	56
4.11 Conclusão .....	57
4.12 Referências .....	57
5 Artigo II .....	63
5.1 Resumo .....	64
5.2 Abstract .....	65
5.3 Introdução .....	66
5.4 Material e métodos .....	67
5.5 Resultados e discussão .....	69
5.6 Conclusão .....	74
5.7 Referências .....	74
6 Artigo III .....	84
6.1 Resumo .....	85

6.2 Abstract .....	86
6.3 Introdução .....	87
6.4 Material e métodos .....	88
6.5 Resultados .....	93
6.6 Discussão .....	94
6.7 Conclusão... ..	99
6.8 Referências.....	99
7 Considerações finais .....	115
Referências .....	116

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Nas últimas décadas, os efeitos da ingestão de ácidos graxos poli-insaturados (em especial os ácidos graxos da família ômega – 3 eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA)) tem recebido considerável importância tanto na saúde humana, quanto na animal. Neste sentido, visto que os ovos são alimentos convencionais, contendo nutrientes que desempenham papéis fundamentais além da nutrição básica, o seu potencial como alimento funcional deve ser considerado (HERRON e FERNANDEZ, 2004).

O enriquecimento de ovos, através da alimentação das aves, com ácidos graxos da família ômega -3 é bem documentado na literatura, seja através do uso de óleos de origem vegetal, como a linhaça, capaz de incrementar significativamente os níveis do ácido graxo alfa-linolênico (AYMOND e VAN ELSWYK, 1995; SOUZA et al., 2008), ou óleos de origem animal, como o óleo de peixe, capaz de incrementar os níveis de EPA e, principalmente, de DHA (CARRILO et al., 2008; LAWLOR et al.; 2010). Entretanto, as aves possuem capacidade metabólica limitada em converter o ácido graxo alfa-linoleico em EPA e DHA (HARGIS e VAN ELSWIK, 1993) e, no que diz respeito aos óleos derivados de peixes, níveis de inclusão acima de 1,5% podem transmitir aos ovos sabor e odor que geralmente são rejeitados pelos consumidores ocidentais (GONZALEZ- ESQUERRA e LEESON, 2000; GONZALEZ - ESQUERRA e LEESON, 2001). Diante deste cenário, segundo Ferreira et al. (2013) as microalgas marinhas constituem uma fonte alternativa potencial na obtenção de ácidos graxos essenciais e, de acordo com Bertoldi et al. (2008), os ácidos graxos poli-insaturados de origem microalgal têm um mercado muito promissor na biotecnologia, em especial na indústria de alimentos funcionais.

Ovos de poedeiras alimentadas com microalgas, normalmente, apresentam perfis de ácidos graxos ômega – 3 semelhantes aos ovos de poedeiras alimentadas com óleo de peixe, sendo o conteúdo em DHA de até 200 mg por ovo (MIRANDA et al., 2015), mantendo a sua aceitação pelos consumidores (FRAEYE et al., 2012). Contudo, este incremento na qualidade dos ovos não deve impactar de forma negativa sobre o desempenho zootécnico e, tampouco, a imunidade das aves. Neste sentido, Pinto et al. (2014), relatam que muitos estudos têm sido realizados com objetivo de investigar os efeitos da ingestão de ácidos graxos poli-insaturados sobre

a resposta imune de humanos e animais, sendo poucos desses direcionados às espécies aviárias.

De acordo com o exposto, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação da dieta de poedeiras, com um produto<sup>1</sup> formulado a base de microalgas marinhas do gênero do gênero *Schizochytrium* sp, rico em ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, sobre o desempenho produtivo e parâmetros imunológicos das aves, bem como na qualidade, perfil lipídico e análise sensorial dos ovos.

---

<sup>1</sup> Produto denominado comercialmente ALL G Rich<sup>®</sup>, produzido e fornecido pela Alltech<sup>®</sup>

## **2 PROJETO DE PESQUISA**

Registro no Comitê de Ética e Experimentação Animal (CEEA): 7538

### **Utilização de uma fonte rica em ácidos graxos poli-insaturados na dieta de poedeiras**

#### **2.1 Equipe**

Verônica Lisboa Santos (Executora); Fernando Rutz (Coordenador); Marcos Antonio Anciuti (Co-orientador); Fabiane Pereira Gentilini; Cristiéle Lange Contreira; Tiago Araújo Rodrigues; Sérgio Leandro Costa de Ávila; João Pedro Llaños Zabaleta; Inácio da Rosa Machado; Cristiane Barsewisch Hobuss; Marco Aurélio Ziemann dos Santos.

## 2.2 Caracterização do problema

A alimentação saudável está em pauta, mais do que nunca, no mundo todo. Dentro do possível as pessoas buscam consumir alimentos que preservem sua saúde e aumentem sua longevidade. Ao longo dos anos, diversas pesquisas têm sido realizadas para elucidar as verdades sobre os componentes alimentares. A real função dos lipídeos no organismo e a necessidade de ácidos graxos como componentes das dietas são cada vez mais conhecidos (VIEIRA, 2006).

Os lipídeos possuem um número grande de funções, entre elas: energética: provem energia de nove calorias por grama, são armazenados pelo corpo, principalmente, como triglicerídeos, até sua utilização; estrutural: são um dos principais componentes das membranas celulares e são vitais para manter a integridade celular, forma, flexibilidade e permeabilidade; processos fisiológicos: as prostaglandinas e os hormônios esteroides desempenham importante papel na homeostase do corpo, os lipídeos estão diretamente envolvidos na produção de eicosanoides e participam na manutenção da parede vascular e nas respostas imunes; vitaminas: algumas vitaminas possuem função reguladora ou de coenzimas e, a gordura da dieta é necessária para absorção de vitaminas lipossolúveis (LEESON E SUMMERS, 2005); palatabilidade: proporcionam aos alimentos sabor, odor e textura além da sensação de saciedade (CHAMPE e HARVEY, 1996).

Os ácidos graxos são nomeados de acordo com sua estrutura química e são classificados como saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, dependendo do número de duplas ligações (Gómez, 2003).

Os ácidos graxos insaturados, linoléico (C18:2); linolênico (C18:3) e araquidônico (C20:4) são constituintes necessários das paredes celulares, mitocôndrias e outros sítios metabólicos intensamente ativos (LEESON e SUMMERS, 2005). Enquanto o corpo possui a capacidade de produzir ácido oleico à partir de precursores saturados, ele não pode produzir, prontamente, qualquer um dos três ácidos graxos acima citados, a menos que uma fonte deles esteja presente na dieta. Os ácidos graxos oleico, linoleico e linolênico são referidos como as séries n-9, n-6 e n-3, respectivamente.

O ácido linoleico é abundante em óleos vegetais (como os óleos de soja e milho), o ácido linolênico é encontrado em quantidades significativas em sementes oleaginosas, como canola, soja e linhaça (LAWRIE, 2005).

Entretanto, tanto nos vegetais (algas, microalgas e fitoplâncton), quanto nos animais de origem marinha (peixes e crustáceos), encontram-se outros ácidos graxos com maior número de carbonos e com maior quantidade de duplas ligações, que também pertencem à série n-3. São os chamados ácidos graxos de cadeia muito longa (superior a 18 carbonos) LCPUFA (do inglês "*long chain polyunsaturated fatty acids*"), eles são o ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5, n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, C22:6, n-3) (SARGENT, 1997).

Segundo Farrell, (1996), organismos aquáticos, principalmente aqueles provenientes de águas marinhas profundas, são fontes ricas em ácidos graxos poli-insaturados da série ômega-3, com destaque especial para os PUFA's, DHA e EPA. Tanto algas quanto peixes se enquadram nesta categoria, apresentando variações consideráveis nos teores de PUFA's n-3 de acordo com algumas variáveis como época do ano, espécie e estado fisiológico.

As algas, e os organismos aquáticos que consomem algas, constituem-se na fonte original de ômega-3 para os peixes, sendo as algas as maiores produtoras primárias deste ácido graxo poliinsaturado e as únicas que podem sintetizar EPA e DHA (BRIZ, 1997).

O DHA é o maior constituinte das células receptoras (Alessandrini, et al., 1998) e inibidor da síntese de tromboxanos (Lands, 1986). No que diz respeito à formação de trombos, estudos clínicos epidemiológicos têm demonstrado que efeitos anti-trombogênicos podem ser atribuídos a um aumento de ácidos graxos n-3 na dieta (BASHO e BIN, 2010). Além disto, apresenta importante função na formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina, sendo predominante na maioria das membranas celulares destes e em diversos tecidos corporais além de, em gestantes, estimular o cérebro do feto proporcionando melhor e maior quantidade de sinapses e favorecendo uma mielinização adequada (ARAUJO, 2011). Na retina estão ligados aos fosfolipídios que estão associados à rodopsina (proteína que interage no processo de absorção de luz). Seu mecanismo de ação está provavelmente relacionado com o aumento na eficiência do processo de transdução da luz e com a regeneração da rodopsina. A diminuição dos níveis de DHA nos tecidos da retina tem sido associada, em recém-nascidos, com anormalidades no desenvolvimento do sistema visual, e em adultos, com a diminuição da acuidade visual (SANGIOVANI e CHEW, 2005).

Por ser altamente insaturado, o DHA atua influenciando as propriedades físicas das membranas cerebrais, as características de seus receptores, as interações celulares e a atividade enzimática. Com o envelhecimento do indivíduo, há um aumento do estresse oxidativo, que atua reduzindo os níveis de DHA e do ácido araquidônico no cérebro. Esse processo resulta em um aumento na proporção de colesterol no cérebro e ocorre em maior intensidade nas doenças de Alzheimer, Parkinson e na esclerose lateral amiotrófica (MORRIS et al., 2003; SAMADI et al., 2006;).

São amplamente conhecidos os benefícios que representam os ácidos graxos altamente insaturados para a saúde humana no que diz respeito à prevenção de doenças coronárias, doenças cardiovasculares, artrite reumática, depressão, depressão pós-parto, cânceres, diabetes, entre outros (PUWASTIEN et al., 1999; SANDERSON et al., 2002; FAGUNDES, 2003). Uma das mais importantes funções dos AGs n-3 e n-6 é relacionada à sua conversão enzimática em eicosanoides. Os eicosanoides têm várias atividades biológicas: modulam a resposta inflamatória e a resposta imunológica; e têm papel importante na agregação plaquetária, no crescimento e na diferenciação celular (CARMO e CORREIA, 2009).

Também relacionada à síntese de eicosanoides, tem-se o crescimento e o desenvolvimento ósseo (GARCIA, 2009). O crescimento de um animal depende do desenvolvimento muscular e do suporte ósseo. A osteoporose é uma causa comum de problemas ósseos em galinhas poedeiras. A perda de osso estrutural associada com esta condição pode aumentar a fragilidade esquelética e contribuir para a alta incidência de fraturas. A principal causa do problema pode surgir a partir da perda óssea da coluna vertebral, o que pode conduzir à fratura ou colapso de vértebras, podendo culminar na condição conhecida como “fadiga de gaiola” (FLEMING et al., 1998). Vários nutrientes influenciam o crescimento e o desenvolvimento dos ossos. Pesquisas têm comprovado que os lipídios da dieta são essenciais na biologia óssea, pois são capazes de influenciar a composição em ácidos graxos da membrana fosfolipídica e a atividade celular óssea (WATKINS et al., 2000; WATKINS, 2003). De todos os eicosanóides produzidos, as prostaglandinas parecem ser as principais substâncias envolvidas na regulação local do metabolismo ósseo (WATKINS, 1992). Ainda neste sentido, Chang et al, (2008), afirma que prostaglandinas derivadas da série n-6 série, em particular, a prostaglandina 2, demonstram ter alguns efeitos inibidores sobre o desenvolvimento ósseo, enquanto



que a prostaglandina derivada da série n-3 pode ter efeitos mais benéficos sobre os osteoblastos estimulando a função e a formação óssea.

Segundo Liu et al. (2003), os ácidos graxos poli-insaturados obtidos a partir de óleo de peixe, melhoraram a resistência tibial de codornas (*Coturnix japonica*). McCormack et al. (2006), (citado por FLEMING, 2008) demonstraram que a substituição de óleo de milho por óleo de salmão em pintinhos com 14 dias de idade melhorou as características ósseas (como força de cisalhamento e teor de cinzas).

Watkins et al. (2000) relatam que os lipídios fornecidos na alimentação podem afetar a composição dos ácidos graxos presentes nos fosfolipídios da membrana, influenciando a função da célula óssea.

Fleming (2008) afirma que o uso do óleo de salmão, (produto rico em n-3 e oriundo dos resíduos da indústria pesqueira), pode melhorar as características ósseas de frangos de corte, podendo ser facilmente incorporados às dietas avícolas. Xu et al. (1994), ao incluírem óleo de peixe em dietas semipurificadas para frangos de corte com oito semanas de idade, verificaram aumento na concentração de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 nos condrócitos e nas vesículas da matriz da cartilagem epifisária.

Além disto, cada vez mais, são encontrados alimentos que fornecem determinadas substâncias em sua composição nutricional que sejam capazes de promover benefícios ao consumidor. A indústria de aves, em particular, tem sido largamente responsável na procura de novas tecnologias para enriquecimento de produtos conservando seu valor alimentício tradicional (VIEIRA, 2006) Através da manipulação dietética das aves, tem sido possível melhorar a qualidade nutricional dos ovos e reduzir a concentração de ácidos graxos saturados da gema (CARVALHO et al., 2009). A produção dos ovos enriquecidos com  $\omega$ -3 é possível pelo fornecimento de fontes ricas nesses ácidos graxos na dieta de poedeiras, como o  $\alpha$ -linolênico (ALA) EPA e DHA (PITA, 2007), podendo contribuir para o aumento da ingestão destes ácidos por parte dos consumidores. Outro importante benefício proporcionado pela ingestão de ácidos graxos da série  $\omega$ -3 EPA E DHA está relacionado com um aumento de diversos indicadores da função imune (GORJÃO et al., 2006). Em humanos, são relatados vários benefícios da ingestão de ácidos graxos poli-insaturados da série n-3, sob a forma de “alimentos fontes”, estando relacionado com a prevenção e tratamento de enfermidades cardiovasculares, com as doenças inflamatórias do trato gastrintestinal, com infecções e ultimamente,

prevenindo lesões e alterações imunológicas em atletas.

Desta forma, a realização deste experimento contribuirá com informações sobre a influência de um produto<sup>2</sup> a base de algas (SP1) sobre a produção, a saúde e o enriquecimento do ovo produzido pelas aves, que os PUFAS n-3 da dieta têm demonstrado em outras espécies.

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito da adição de uma fonte de gordura a base de farinha da alga *Schizochytrium* sp. e levedura seca de cervejaria sobre o desempenho produtivo, imunologia, enriquecimento de ovos com DHA e qualidade óssea de poedeiras.

## **2.3 Objetivos e metas**

### **2.3.1 Objetivos gerais**

- a) incrementar a pesquisa na área de nutrição de aves;
- b) verificar o efeito da inclusão de uma fonte de gordura rica em ácidos graxos, sobre o desempenho produtivo, qualidade dos ovos, resistência óssea de poedeiras semipesadas.
- c) desenvolver o espírito crítico do acadêmico com relação à utilização de tecnologias, e na busca de alternativas que proporcionem desenvolvimento socioeconômico regional;
- d) gerar conhecimentos técnico-científicos possíveis de serem utilizados por unidades produtoras de ovos.

### **2.3.2 Objetivos Específicos**

Determinar os efeitos da utilização de uma fonte de gordura rica em ácidos graxos, sobre:

#### 1) Desempenho produtivo:

- a) peso corporal;
- b) consumo de ração;
- c) conversão alimentar
- d) produção de ovos;

#### 2) Perfil de ácidos graxos:

---

<sup>2</sup> Produto comercial denominado SP1, produzido e fornecido pela Alltech.

a) Determinação do perfil de ácidos graxos nas gemas dos ovos

### 3) Imunidade

a) Coletas de sangue para a realização das análises de contagem leucocitária diferencial (leucócitos granulares e não granulares) e imunidade.

### 4) Resistência óssea e teor de cinzas e minerais:

a) Tíbia

### 5) Análise sensorial

## 2.3.3 Metas

- 1) Melhorar os índices de desempenho zootécnico;
- 2) Aumentar a imunidade de poedeiras semipesadas;
- 3) Melhorar os índices de resistência óssea;
- 4) Produzir ovos com maior teor de ácidos graxos poli-insaturados, da série  $\omega$ -3 para o mercado consumidor.

## 2.4 Metodologia e estratégia de ação

O experimento será realizado por um período de 12 meses. Serão alojadas em aviário *dark house*, 192 poedeiras semipesadas, da linhagem *Isa brown*, com 30 semanas de idade no Aviário Experimental do Instituto Federal Sul-rio-grandense (IFSul), no *campus* Visconde da Graça. As aves serão mantidas em gaiolas de postura, sendo três aves/gaiola, o que constituirá a unidade experimental, totalizando 64 unidades experimentais. A ração basal será de milho e farelo de soja, respeitando a cada um dos tratamentos propostos, conforme Rostagno, (2011), adaptados para os níveis estabelecidos pelo manual da linhagem. Os grupos serão divididos em quatro tratamentos que consistirão em: T1 – controle (sem adição de SP1); T2 = T1 + SP1 (0.5%); T3= T1+ SP1 (1.0%) e, T4= T1+ SP1 (2.0%), sendo 16 repetições/tratamento em um delineamento casualizado. O fornecimento do alimento

será através de comedouros tipo calha sendo registrado o consumo pelas aves de cada unidade experimental. As aves terão livre acesso à água através de bebedouros tipo *nipple*. As aves serão mantidas sob as mesmas condições ambientais, com umidade e ventilação controladas. O programa de luz seguirá o recomendado pelo manual da linhagem com, no mínimo, oito horas de escuro.

Serão avaliados os seguintes parâmetros de produção: peso corporal das aves, produção de ovos, conversão alimentar por dúzia e massa de ovos produzidos, e consumo de ração. Quanto à qualidade dos ovos, serão avaliadas características de qualidade interna (área dos ovos, cor de gema, altura do albúmen, unidade *Haugh* e pesos de albúmen e gema) e, qualidade externa (peso dos ovos, gravidade específica, espessura e peso das cascas).

Na 30ª semana será coletado sangue de oito aves/tratamento. Em seguida as aves serão vacinadas contra a doença de Newcastle. Novas coletas de sangue serão realizadas no 28º, 56º e 84º dias após a vacinação para a realização das análises de imunidade (teste ELISA) no Laboratório de Virologia e Imunologia Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), *campus* Capão do Leão, e contagem leucocitária diferencial (leucócitos granulares e não granulares). A cada 28 dias serão coletados cinco ovos por repetição para a extração de lipídeos pelo método descrito por Bligh e Dyer, (1959) e esterificação segundo a metodologia de Hartman e Lago, (1973). As amostras serão analisadas por cromatografia gasosa no Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da UFPel.

Ao final de 180 dias, serão abatidas oito aves/tratamento e retirados os ossos da tíbia para a realização de resistência óssea em uma prensa computadorizada (Instron), seguindo a metodologia descrita por Rech, (2006).

Para a realização do painel sensorial, serão fornecidas as amostras (metade de um ovo cozido em água fervente por 10 minutos) de cada tratamento para serem avaliadas por teste hedônico (aceitabilidade) com escala hedônica de nove pontos com os extremos marcados com os termos gostei muitíssimo” (9) e “desgostei muitíssimo” (1). O painel sensorial será realizado no laboratório de Análise Sensorial, do IFSul, no *campus* Visconde da Graça.

Os abates serão realizados no Abatedouro do Instituto Federal Sul-rio-grandense - *campus* Visconde da Graça, com uso de insensibilização elétrica (eletronarrose), sendo fiscalizado pelo SIM (Serviço de Inspeção Municipal).

O delineamento a ser utilizado será completamente casualizado. Os dados serão submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade e regressão polinomial.

## **2.5 Resultados e Impactos esperados**

Os resultados pretendidos e os impactos esperados com a execução deste projeto são:

a) Recomendar a inclusão de uma nova fonte de gordura a base de farinha da alga *Schizochytrium* sp. e levedura seca de cervejaria na alimentação de poedeiras semipesadas;

b) Utilizar uma nova fonte de gordura a base de farinha da alga *Schizochytrium* sp. e levedura seca de cervejaria na dieta de poedeiras semipesadas sem prejudicar o desempenho das aves;

c) Proporcionar incremento na qualidade nutricional dos ovos;

e) Aumentar a resistência óssea de poedeiras;

f) Quantificar os índices de imunidade das aves;

d) Desenvolver o espírito crítico do acadêmico com relação à utilização de tecnologias, e a busca de alternativas que proporcionem desenvolvimento socioeconômico regional;

e) Integrar os setores da indústria tecnológica e o acadêmico na consolidação da pesquisa.



## 2.7 Riscos

- Grande mortalidade de aves;
- Doenças não controladas por vacinas.

## 2.8 Dificuldades

- Não haver disponibilidade de aves na época de execução do experimento.

## 2.9 Aspectos éticos

Como o projeto envolve a utilização de animais os aspectos éticos serão contemplados através do (a):

- manutenção da saúde e bem-estar das aves evitando-se situações de estresse;
- treinamento dos funcionários que manejam as aves para que tenham conhecimentos básicos do comportamento animal e também para que estejam cientes dos procedimentos relevantes em situações de emergência que representem perigo à saúde humana, segurança dos alimentos ou saúde e bem-estar das aves;
- higienização de todos os equipamentos e das instalações de produção a serem utilizados;
- registro de todas as ocorrências da produção;
- isolamento do aviário de forma que não haja o acesso de outros animais e visitantes;
- controle de insetos e roedores que representam riscos eminentes de infecções além de ecto e endoparasitas;
- disponibilização de espaço suficiente nos boxes para que as aves expressem o seu comportamento natural (Protocolo de Bem-Estar para Aves Poedeiras, 2008);
- aferição e registro da temperatura e umidade máximas e mínimas dentro do aviário;
- manuseio da temperatura e do nível de ventilação do aviário de forma apropriada ao sistema de criação, idade, peso e estado fisiológico das aves, evitando assim a elevação da temperatura acima da zona de conforto térmico;
- cuidado com o manuseio das aves que serão pesadas semanalmente;

- fornecimento de água limpa, potável, que não ofereça riscos à saúde e de forma que o consumo seja à vontade;
- armazenamento das rações embaladas em sacarias em local adequado e sobre estrados de madeira;
- fornecimento de alimentação e nutrição adequadas a cada fase de criação;
- cumprimento do protocolo de vacinações realizado de acordo o plano contra os desafios de enfermidades aviárias da região, respeitando-se as recomendações do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) (1994);
- registro da administração de vacinas e/ou medicamentos contendo o nome do produto, número do lote/partida, número de aves tratadas, quantidade utilizada, período de carência;
- retirada diária de aves mortas e/ou eliminadas do interior do aviário, sendo destinadas à compostagem;
- aves com problemas no crescimento ou que apresentam alguma patologia individual que os cause sofrimento, serão eutanasiadas pelo deslocamento cervical (Protocolo de Bem-Estar para Aves Poedeiras, 2008);
- criação de aves de mesma origem e idade no galpão, operando no sistema todos dentro-todos fora;
- utilização de pedilúvio na entrada do aviário;
- manutenção da unidade de produção livre de lixo e resíduos, armazenando-os em local adequado até o seu descarte;
- respeito à legislação ambiental vigente.

## 2.10 Referências bibliográficas

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. Official Methods of analysis. 13. ed. . Arlington: **AOAC International**, 2000. 989p.

ARAUJO, A.P. ÔMEGA 3 PARA GRÁVIDAS. Disponível em <http://vilamulher.terra.com.br/omega-3-para-gravidas-e-seus-bebes-8-1-54-201.html> Acesso em 03/01/2013.

ALESSANDRI, J.M.; GOUSTARD, B.; GUESNET, P.; DURANT, G. Docosahexaenoic acid concentrations in retinal phospholipids of piglets fed na infant formula enriched with long-chain polyunsaturated fatty acids: effects of egg phospholipids and fish oils with different ratios of eicosapentaenoic acid to docosahexaenoic acid. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 67, p. 377-385, 1998



BASHO, S.M.; BIN, M.C. Propriedades dos alimentos funcionais e seu papel na prevenção e controle da hipertensão e diabetes. **Interbio**, v.4, n.1, p.48-58, 2010.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n.8, p. 911–917, 1959

BRIZ, R.C. Ovos com teores mais elevados de ácidos graxos ômega 3. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS, 7., 1997, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, 1997. p153 – 193.

CARMO, N. C. N. S., CORREIA, M. I. T. D. A importância dos ácidos graxos Ômega-3 no câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v55, n. 3, p279-287, 2009.

CARVALHO, P.R.; PITA, M.C.G.; PIBER NETO, E.; MENDONÇA JUNIOR, C.X. Influência da adição de fontes marinhas ricas em PUFAs na dieta sobre a composição lipídica e percentuais de incorporação de PUFAs n-3 na gema do ovo. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.76, n.1, p.27-39, 2009.

CHAMPE, P.C., HARVEY, R.A. **Bioquímica Ilustrada**. 2ª Edição. Porto Alegre, Ed Artes Médicas, 445p. 1996

FAGUNDES, L. A. **Guia de alimentação natural: alimentos que nos ajudam a viver melhor**. Porto Alegre : AGE, 2003. p. 83-91.

FARRELL, D.J. The problems and practicalities of producing Omega (n)-3 fortified egg. **World Poultry**, v.12, n.2, p39-41, 1996.

FLEMING, R.H., McCOMARCK, L., McTEIR, C.C., WHITEHEAD. Medullary bone and humeral breaking strength in laying hens. **Research in Veterinary Science**. n. 64, p. 63-67, 1998.

FLEMING, R.H. Symposium on “Diet and bone health” Nutritional factors affecting poultry bone health. **Proceedings of the Nutrition Society** v.67, p 177 – 183, 2006.

GARCIA, E. R. M., MURAKAMI, A. E., MATSUSHITA, M., DALALIO, M. M. O., DELLA-ROSA, V. A., FERNANDES, J. I. M. Efeito da inclusão de óleo de linhaça sobre a composição lipídica e a concentração de prostaglandina (PGE2) em ossos longos de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38, n.7, p. 1247-1255, 2009.

GÓMEZ, M.E.D.B. Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa. **Tese de Doutorado** USP. São Paulo, 149p. 2003.

GORJÃO, et al. Efeito da suplementação com óleo de peixe rico em ácido docosahexaenóico na função leucocitária humana. Disponível em: [http://www.naturalis.com.br/diadooomega3/artigos/artigo\\_dha\\_01.pdf](http://www.naturalis.com.br/diadooomega3/artigos/artigo_dha_01.pdf) Acesso em 02 de agosto de 2013.

HARTMAN, N. L.; LAGO, R. C. A rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, n.9, p.475-476, 1973.

LANDS, W.E.M. Fish in human health. Orlando: **Academic Press**, Florida.167p, 1986.

LAWRIE, R.A. **Ciência da carne**. 6ª Edição, Porto Alegre, Ed Artmed, 384p, 2005.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial poultry nutrition**. 3ed. University Books. Canadá. 406p. 2005.

LIU D, VEIT HP, WILSON JH & DENBOW DM. Longterm supplementation of various dietary lipids alters bone mineral content, mechanical properties and histological characteristics of Japanese quail. **Poultry Science** 82, 463–473, 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. Sensory evaluation techniques. Boca Raton: **CRC Press**, 2v. 1987. 387p.

MORRIS, M.C.; EVANS, D.A.; BIENIAS, J.L.; TANGNEY, C.C; BENNETT, D.A.; WILSON, R.S.; AGGARWAL, N.; SHENEIDER, J. Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. **Archivos Neurol**. v.60, p.940-946, 2003.

PITA, M.C.G. **Fontes marinhas e vegetais de PUFAs na dieta de galinhas poedeiras: efeito na composição lipídica da gema do ovo e tempo de incorporação dos ácidos graxos.** 2007,136f, Tese (Doutorado em Clínica Veterinária). Curso de Pós-graduação em Clínica Médica Veterinária da USP. 2007

PUWASTIEN, P. K.; NAKNGAMANONG, Y.; BHATTACHARJEE, L. Proximate composition of raw and cooked that freshwater and marine fish. **Journal Food Composition and Analysis**, v.12, p.9- 16, 1999.

RECH, J.L. **Utilização de dietas para frangos de corte e poedeiras contend zinco e selênio orgânico.** 2006,142f, Tese (Doutorado em Zootecnia). Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFPel, 2006.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para suínos e aves: Composição de alimentos e exigências nutricionais.** 1ª ed. Viçosa:UFV, Departamento de Zootecnia, 2011. 186 p.

SAMADI, P.; GRÉGORIE, L.; ROUILARD, C.; BÉDARD, P.J.; PAOLO, D.I.T.; LÉVESQUE, D. Docosahexaenóic acid reduces levodopa-induced dyskinesias in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine monkeys. **ANNALS of Neurology**, v.59, n.2, p.282-288, 2006.

SANDERSON, P. et al. UK Food Standards Agency-linolenic acid workshop report. **Journal of Nutrition**, Philadelphia ,v.88, p.573-579, 2002.

SANGIOVANI, J.P.; CHEW, E.Y. The role of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. PubMed U.S. **National Library of Medicine, National Institute of Health**, v. 24, n.1, p. 87-138, 2005.

SARGENT, J.R. Fish oils and human diet. **British Journal of Nutrition.**, v.78, suppl. 1, p5-13, 1997.

UBA – União Brasileira de Avicultura. Protocolo de Bem-Estar para Aves Poedeiras, 2008. Disponível em: <http://www.uba.org.br>. Acesso em 30/12/2012.

VIEIRA, M de M. O enriquecimento de carne de aves com ácidos graxos poli-insaturados n-3. **Monografia (Especialização)** 29f. Porto Alegre: UFRGS, 2006.

WATKINS, B.A. Factors involved in the local regulation of bone biology. In: WHITEHEAD, C.C. **Bone biology and skeletal disorders in poultry**. England: Carfax Publishing Company, p.67-86.1992.

WATKINS, B.A.; LI, Y.; ALLEN, K.G.D. et al. Dietary ratio of (n-6)/ (n-3) polyunsaturated fatty acids alters the fatty acid composition of bone compartments and biomarkers of bone formation in rats. **Journal of Nutrition**, v.130, n.9, p.2274-2284, 2000.

WATKINS, B.A.; LI, Y.; LIPPMAN, H.E. et al. Modulatory effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on osteoblast function and bone metabolism. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.68, p.387-398, 2003.

XU, H.; WATKINS, B.A.; ADKISSON, H.D. Dietary lipids modify the fatty acid composition of cartilage, isolated chondrocytes and matrix vesicles. **Lipids**, v.29, n.9, p.619-625, 1994.

## **3 RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO**

### **3.1 Local**

O projeto foi realizado no aviário experimental modelo *dark house* localizado no Instituto Federal Sul-rio-grandense (IFSul) câmpus Pelotas-Visconde da Graça, na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, no paralelo 31°45'48" Sul e no meridiano 52°29'02" Oeste de Greenwich.

O presente trabalho foi submetido ao Comitê em Experimentação e Ética Animal, da Universidade Federal de Pelotas e recebeu parecer favorável, estando registrado sob o nº 7538.

### **3.2 Período experimental**

O estudo foi realizado no período de dezembro de 2013 a abril de 2014. O período experimental foi de 126 dias, divididos em seis ciclos produtivos, de 21 dias cada.

### **3.3 Animais**

Foram utilizadas 192 poedeiras semipesadas, da linhagem Isa brown, com idade inicial de 30 semanas. As aves foram pesadas e alojadas em gaiolas de postura com dimensões de 45x40x50cm (LxPxH).

### **3.4 Instalações**

As aves foram alojadas em gaiolas de postura, dispostas em dois andares, sendo três aves por gaiola, nas dimensões de 45x40x50cm (LxPxH) disponibilizando 600cm<sup>2</sup> por ave e mantidas em galpão tipo *dark house* com umidade e ventilação controladas.

O sistema de ventilação consistia no uso de dois exaustores, localizados no centro do galpão acionados por termostatos e aberturas laterais reguláveis.

Os dejetos eram recolhidos em canaletas abaixo das gaiolas, sendo drenados para uma fossa externa ao galpão, para uso em lavouras, de acordo com a necessidade da Unidade de Produção Agrícola do câmpus Pelotas-Visconde da Graça..

### 3.5 Programa de luz

A luminosidade do galpão foi fornecida artificialmente por lâmpadas incandescentes distribuídas por todo galpão. Utilizou-se um programa de luz de 15 horas e 30 minutos de luz artificial diária com intensidade luminosa de  $60 \text{ lux/m}^2$ , controlado por um relógio tipo timer automático.

### 3.6 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram formuladas para atender as exigências nutricionais das poedeiras, através do programa de formulação de rações Optimal<sup>®</sup>, e suas composições percentuais estão demonstradas na Tabela 1. A mistura das dietas foi realizada em misturador vertical e, após, acondicionadas em sacos de polietileno, identificados de acordo com o tratamento e estocadas no interior do aviário, permanecendo sobre estrados de madeira.

A constituição das dietas foi a base de milho, farelo de soja, com diferentes níveis de inclusão de um produto<sup>3</sup> (ALL G Rich<sup>®</sup>) formulado a base da microalga marinha do gênero *Schizochytrium* sp e, a composição nutricional da dieta foi formulada de acordo com as recomendações do manual da linhagem. Foram quatro dietas experimentais (tratamentos), conforme demonstrado na Tabela 1, definidos como: dieta controle (sem adição de microalgas) e três dietas com diferentes níveis de inclusão de microalgas, totalizando quatro dietas experimentais, sendo: T1: controle; T2: T1+ 0,5% de microalgas, T3: T1+ 1,0% de microalgas e, T4: T1+2,0% de microalgas.

---

<sup>3</sup> Produto produzido e fornecido pela empresa Alltech., anteriormente denominado SP1.

Tabela 1. Composição e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais

Ingredientes (%)	T1	T2	T3	T4
Milho	63,25	63,76	62,81	60,90
Farelo de soja	24,20	24,12	24,28	24,61
Óleo soja	0,50	0,00	0,00	0,00
Calcáreo calcítico	6,03	5,60	5,88	6,26
Fosfato bicálcico	1,39	1,39	1,40	1,60
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50
DL Metionina	0,13	0,13	0,13	0,13
Núcleo Postura <sup>1</sup>	4,00	4,00	4,00	4,00
<i>Schizochytrium</i> sp	0,00	0,50	1,00	2,00
$\Sigma$	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
Energia metabolizável (kcal/kg)	2750,00	2750,00	2750,00	2750,00
Proteína bruta (%)	16,30	16,30	16,30	16,30
Cálcio (%)	3,86	3,70	3,81	4,00
Fósforo (%)	0,81	0,81	0,81	0,85
Fósforo disponível (%)	0,39	0,39	0,39	0,42
Sódio (%)	0,32	0,32	0,32	0,32
Cloro (%)	0,33	0,33	0,33	0,33
Metionina total (%)	0,46	0,46	0,46	0,46
Lisina total (%)	0,83	0,83	0,84	0,84

<sup>1</sup>Composição garantida (por kg ): vitamina A: 184000 UI; vitamina D3: 46000 UI; vitamina E: 345 mg; vitamina K: 46 mg; vitamina B12: 180 mg; tiamina: 23 mg; riboflavina: 92 mg; piridoxina: 69 mg biotina: 1,44 mg; niacina 23: mg; ácido fólico: 12 mg; colina: 900 mg; metionina: 1,80%; cálcio: 30%; fósforo:4,85%; sódio: 2,40%; manganês: 2940 mg; ferro: 1260 mg; zinco: 2100 mg; cobre: 250 mg; cobalto: 8,40 mg; selênio: 14,70 mg

### 3.7 Delineamento estatístico

As aves foram pesadas individualmente e distribuídas totalmente ao acaso em 64 gaiolas, resultando em 16 repetições por tratamento. O modelo matemático utilizado foi  $y_{ij} = m + a_i + e_{ij}$ , sendo:  $y_{ij}$  = a observação do  $i$ -ésimo tratamento ( $i = 1, 2, 3, 4$ ) na  $j$ -ésima repetição ( $j = 1, 2, 3, \dots, 16$ );  $m$  = representa a média geral do experimento;  $a_i$  = representa o efeito do  $i$ -ésimo tratamento;  $e_{ij}$  = representa o erro aleatório alocado correspondendo a observação média no  $i$ -ésimo tratamento na  $j$ -ésima repetição.

### **3.8 Práticas de manejo**

A água foi disponibilizada através de caixas d'água cloradas, presentes no galpão, distribuída à vontade por bebedouros tipo *nipple*, sendo dois bebedouros por gaiola. O fornecimento do alimento foi realizado diariamente, manualmente, em comedouro tipo calha aberta, localizado longitudinalmente na frente de cada gaiola, com espaço de 15 cm/ave. No caso da morte de alguma ave a ração era retirada, pesada e devolvida para o respectivo comedouro para posterior realização de ajuste no fornecimento e no cálculo dos parâmetros produtivos da unidade experimental.

### **3.9 Manejo dos ovos**

Diariamente, os ovos foram coletados e registrados por unidade experimental em planilha. Ovos sem casca, quebrados ou trincados foram desprezados, mas registrados como ovos produzidos e inaproveitados. Ao final de cada ciclo produtivo, foram coletados três ovos por unidade experimental, identificados por gaiola e submetidos às análises de qualidade interna e externa.

### **3.10 Variáveis Resposta e Coleta de dados**

#### **3.10.1 Desempenho produtivo**

As variáveis de desempenho produtivo avaliadas foram: peso corporal (PC), consumo de ração (CR), percentual de ovos produzidos (PdOV), conversão alimentar por dúzia (CADz) e conversão alimentar por massa (CAM). As variáveis CR e a PdOV foram registradas diariamente, enquanto as demais foram obtidas a cada final de ciclo produtivo. A variável CADz foi obtida após os dados referentes ao CR e a PdOV. Para análise estatística dos dados foi considerada a média dos valores obtidos na unidade experimental.

##### **3.10.1.1 Peso corporal**

As aves foram pesadas individualmente, no início do período e a cada final de ciclo produtivo, com balança digital com sensibilidade de 5g e capacidade máxima de 20 kg. O peso corporal médio foi obtido através da divisão do peso das aves pelo número de aves que compunham a unidade experimental.



### 3.10.1.2 Consumo de ração

O consumo de ração foi calculado a partir da quantidade de ração fornecida diariamente e das sobras de ração coletadas e pesadas ao final de cada ciclo produtivo. O consumo total por ave (CT), quando não houve mortes na unidade experimental, foi obtido pela equação: **CT = ((QRD x NDSP) – S) / NA**, onde:

CT = consumo total

QRD = quantidade de ração fornecida

NDSP = número de dias de consumo

S = sobra da unidade experimental

NA = número de aves na gaiola.

Quando houve mortalidade, foi registrado o dia da morte, coletada e pesada a sobra de ração, sendo que o consumo total por ave foi determinado pela equação:

**CT = (((QRD x NDAM) – SM) / NAAM) + ((QRD x NDDM) – S) / NAV**, onde:

CT = consumo total

QRD = quantidade de ração fornecida

NDAM = número de dias de consumo antes da morte

SM = sobra da unidade experimental no dia da morte

NAAM = número de aves na gaiola antes da morte

NDDM = número de dias depois da morte

S = sobra no final do período

NAV = número de aves vivas

### 3.10.1.3 Produção de ovos

A produção de ovos foi registrada diariamente para cálculo do percentual de ovos produzidos por unidade experimental, ao final de cada ciclo produtivo.

### 3.10.1.4 Conversão alimentar por dúzia de ovo

A conversão alimentar por dúzia (CADz) de ovo foi obtida através da fórmula:

**CADz = CT / (TOP / 12)**, onde:

CADz: conversão alimentar por dúzia de ovo;

CT = consumo total de ração;

TOP = total de ovos produzidos no período;

12: uma dúzia de ovo produzida.

A redução nas porções de ração fornecida diariamente nos casos em que ocorreu mortalidade foi considerada. A sobra de ração, recolhida no dia da morte da ave e a sobra de ração do final do ciclo foram descontadas do volume total de ração fornecida para a gaiola.

#### **3.10.1.5 Conversão alimentar por massa de ovo**

A conversão alimentar por massa de ovo (CAMO) foi obtida através da fórmula: **CAMO = CTR/MO**, onde:

CAMO = conversão alimentar por massa de ovos;

CTR = consumo total de ração;

MO = massa de ovo.

#### **3.10.2 Qualidade dos ovos**

A avaliação da qualidade externa e interna dos ovos foi realizada a cada final de ciclo produtivo. Foram coletados três ovos por unidade experimental os quais foram avaliados individualmente.

As variáveis analisadas para a obtenção da qualidade externa foram: peso do ovo (POV), gravidade específica (GE), peso da casca (PC) e espessura da casca (EC). Para a qualidade interna foram consideradas as seguintes variáveis: coloração da gema (CG), altura do albúmen (AA), massa do ovo (MO), unidade *Haugh* (UH), peso da gema (PG) e peso da clara (PCI). Para análise estatística dos dados foi considerada a média dos valores obtidos na unidade experimental.

##### **3.10.2.1 Peso do ovo**

Os ovos produzidos nas últimas 24 horas de cada ciclo produtivo foram identificados por gaiola, recolhidos e pesados individualmente em balança digital com sensibilidade de 0,1 g.

##### **3.10.2.2 Gravidade específica**

De acordo com Olsson (1934 citado por SECHINATO, 2003) a gravidade específica é uma estimativa da quantidade de carbonato de cálcio depositado sobre a membrana externa da casca do ovo e está diretamente relacionada com o

percentual de casca, ou seja, quanto maior for a gravidade específica do ovo maior é a resistência da casca à quebra.

Para a obtenção desta variável os ovos foram colocados em uma cesta perfurada e imersos em baldes dispostos em ordem de menor para maior concentração salina, com peso específico variando entre 1,062 a 1,102, com intervalos de 0,004, totalizando 11 soluções. A cada imersão em solução salina, os ovos que flutuavam eram retirados e suas respectivas concentrações anotadas. As quantidades de cloreto de sódio (NaCl) utilizadas para a obtenção das densidades desejadas são mostradas na Tabela 2.

As gravidades específicas das soluções salinas contidas nos recipientes foram calibradas, antes de cada avaliação, com a utilização de um densímetro de petróleo.

Tabela 2: Quantidades utilizadas de sal (NaCl) para obtenção das densidades específicas desejadas

Gravidade específica	Gramas de NaCl / L de água
1,062	95,3
1,066	100,3
1,070	106,3
1,074	112,3
1,078	118,2
1,082	124,3
1,086	130,3
1,090	136,3
1,094	142,3
1,098	148,3
1,102	154,5

Fonte: Zumbado (1983)

### 3.10.2.3 Peso da casca

Após as avaliações da qualidade interna dos ovos, as cascas foram lavadas em água morna para a remoção do albúmen aderido à sua membrana interna. Depois estas cascas foram deixadas em temperatura ambiente por, no mínimo, sete dias e, estando secas, as avaliações do peso e da espessura foram realizadas.

A pesagem individual das cascas foi realizada em balança digital com capacidade para 2kg e sensibilidade de 0,1 gramas.

#### **3.10.2.4 Espessura da casca**

Após a pesagem procedeu-se a medida da espessura da casca, com a utilização de um micrômetro, utilizando-se a porção mediana da casca como local de medição.

#### **3.10.2.5 Cor de gema**

A cor da gema foi obtida visualmente utilizando-se o leque colorimétrico de Roche, através da comparação da cor da gema com as cores existentes no leque o qual possui uma variação de 15 tonalidades da cor, desde o amarelo claro (1) ao alaranjado escuro (15).

#### **3.10.2.6 Altura do albúmen**

A medida desta variável foi realizada através da régua de unidade *Haugh* posicionado na região mediana entre a borda externa do albúmen espesso e a borda da gema do ovo, perpendicular a chalaza. Esta variável foi medida e utilizada para cálculo da UH.

#### **3.10.2.7 Massa de ovo**

A massa dos ovos foi calculada através da fórmula: **MO = (PdOV/21) x POV**, sendo:

MO = massa do ovo

PdOV = produção diária de ovos

POV = peso do ovo

21 = dias de produção

#### **3.10.2.8 Unidade *Haugh***

De modo geral, quanto maior o valor da unidade *Haugh*, melhor a qualidade do ovo (RODRIGUES,1975). Seu valor é obtido através de uma equação logarítmica que correlaciona o peso do ovo com a altura da clara espessa, sendo:

$$UH = 100 \log \left[ H - \frac{\sqrt{G(30W^{0.37} - 100)}}{100} + 1,9 \right]$$

### Onde

H = altura da clara espessa (milímetros);

G = constante gravitacional de valor 32;

W = peso metabólico do ovo (g).

### 3.10.2.9 Peso do albúmen

Para pesagem do albúmen, utilizou-se um separador de gema e o albúmen foi pesado em balança digital com capacidade para 2 kg e sensibilidade de 0,1 gramas.

### 3.10.2.10 Peso da gema

Após a separação do albúmen, a gema foi pesada em balança digital com capacidade para 2 kg e sensibilidade de 0,1 gramas.

## 3.11 Análise do perfil lipídico das gemas

### 3.11.1 Extração lipídica

Ao final do 4°, 5° e 6° ciclos experimentais, foram coletados cinco ovos por repetição de cada tratamento para a realização da análise de perfil lipídico. As amostras foram formadas por um *pool* de cinco gemas, as quais foram congeladas e armazenadas em ultra freezer (-80°C) até o momento das análises. Cada *pool* foi considerado uma repetição, e cada tratamento, constituído por três repetições. A extração dos lipídeos foi realizada seguindo o método descrito por Bligh Dyer, (1959) e a metilação e saponificação segundo a metodologia proposta por Hartman e Lago, (1973). Pesou-se 3,0g de gema crua em balança analítica 0,0001g, a qual foi transferida para balão volumétrico de 100 mL, sendo seu volume completado com 10 mL de metanol e 10 mL de clorofórmio. A mistura foi agitada em Turrax (4.600 rpm) durante 30 segundos para homogeneização. A seguir, adicionou-se 10 mL de metanol à mistura e as amostras foram levadas à mesa agitadora por 30 minutos. Na etapa seguinte a cada tubo de ensaio contendo as amostras, foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 10 mL de sulfato de sódio anidro diluído em água destilada,

sendo encaminhados para a centrifugação (3000 rpm por 2 minutos). As amostras foram deixadas em repouso até que a parte sólida fosse depositada no fundo dos tubos. A fase superior foi descartada e a inferior coletada (com o uso de pipetas Pasteur), sendo filtrada em filtro de papel para tubo de vidro ao qual, previamente, havia sido adicionada uma colher de chá de sulfato de anidro em pó. Foram coletados 3mL da solução e acondicionados em tubo de vidro com rosca para a realização de metilação.

### 3.11.2 Metilação

O hexano foi evaporado sob nitrogênio até que, somente a gordura permanecesse no fundo dos tubos, após, foi adicionado 0,5 mL de KOH (em metanol). As amostras foram agitadas em vortex, por um minuto e levadas ao banho-maria a 100°C durante 10 minutos. Se necessário (caso as amostras secassem por completo durante o banho-maria) era adicionado 0,5 mL de metanol. As amostras foram deixadas em repouso para resfriamento até alcançarem a temperatura ambiente, quando adicionou-se 1,5 mL de ácido sulfúrico (em metanol) e levadas novamente ao banho-maria, por 10 minutos. A seguir os tubos foram deixados em repouso até alcançarem a temperatura ambiente, quando foi acrescentado 2 mL de Hexano, agitados no vórtex e deixados em repouso novamente. Do conteúdo restante foi retirada a fase superior e acondicionada em tubos de plástico lacrados com *parafilm* ao redor da tampa para melhor fechamento do tubo e preservação das amostras, as quais foram armazenadas em freezer até que fossem preparadas para a cromatografia.

As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa, no Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da UFPel, através de cromatógrafo Shimadzu GC-2010, com auto-injetor AOC-20i (Shimadzu®) e coluna SPTM 2560 capylary column (Supelco®) com dimensões 100m x 0,025 mm I.D. x 0,2 µm.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras padrões de ácidos graxos autênticos (Mix FAME® C4C24 SUPELCO® (n° 18919), com injeção de 1 µL e *Split* 100:1). A quantificação dos ácidos graxos foi realizada por área dos picos observados.

### **3.12 Análise Sensorial**

No último dia experimental 20 ovos de cada tratamento foram coletados e avaliados por 20 provadores não treinados, em cabines individuais, no Laboratório de Análise Sensorial, do IFSul, câmpus Pelotas-Visconde da Graça. O teste utilizado foi o de Comparação Múltipla ou Diferença do Controle, quando os avaliadores deviam atribuir escores de variação de características sensoriais em relação à amostra controle, conforme metodologia descrita por ABNT (1995), com escala hedônica de nove pontos com número atribuídos aos termos, sendo:

- 1- Extremamente melhor do que a padrão
- 2- Muito melhor do que a padrão
- 3- Regularmente melhor do que a padrão
- 4- Ligeiramente melhor do que a padrão
- 5- Nenhuma diferença da padrão
- 6- Ligeiramente pior do que a padrão
- 7- Regularmente pior que a padrão
- 8- Muito pior do que a padrão
- 9- Extremamente pior do que a padrão

Os atributos avaliados foram: aparência, aroma, textura, sabor e impressão global. Todos os provadores receberam amostras controle identificadas com a letra P (padrão) e mais quatro amostras de tratamentos distintos, devidamente codificados. Para a realização do teste, foram fornecidas as amostras (metade de um ovo cozido em água fervente por 10 minutos) de cada tratamento para serem avaliadas (MIZUMOTO et al., 2008). Sal e água mineral ficaram disponíveis aos provadores.

### **3.13 Parâmetros imunológicos**

As aves foram identificadas através de anilhas numeradas para que o sangue fosse coletado das mesmas aves durante o período experimental

No 21º dia experimental as aves foram vacinadas contra a doença de Newcastle. As coletas<sup>4</sup> de sangue foram realizadas no 42º, 63º e 84º dias após a vacinação. Foi coletado sangue de oito aves/tratamento. As coletas de sangue foram realizadas no período da manhã, através de venopunção da veia ulnar.

### **3.13.1 Avaliação da imunidade humoral**

A avaliação da imunidade humoral foi realizada através de kit ELISA específico, seguindo as recomendações do fabricante (BioChek® – BioChek Poultry Immunoassays – Newcastle Disease Antibody Test Kit, Lote N° FS5994). Foram coletados, 3 mL de sangue e distribuídos na seguinte proporção: 1 ml em tubos BD vacutainer® (tubos com vácuo e 7,2 mg de etilenodiaminotetracético) EDTA) e, 2mL em tubos BD vacutainer®, sem anticoagulante os quais foram centrifugados a 2500 rpm durante 10 minutos, para obtenção do soro, o qual foi congelado em tubos de plástico previamente identificados, para posterior realização da análise de imunidade, no Laboratório de Virologia da Faculdade de Medicina Veterinária/Universidade Federal de Pelotas.

### **3.13.2 Contagem total e diferencial de leucócitos**

Para a realização da contagem leucocitária total e diferencial foi utilizado o sangue acondicionado nos tubos vacutainer com o anticoagulante EDTA. Na contagem total de leucócitos, utilizou-se a seguinte técnica: com o auxílio de uma pipeta de Thoma aspirou-se 0,5 mL de sangue, fez-se a higienização da pipeta e aspirou-se 0,6 mL da solução de Natt & Harrick, (1952), agitando-se manualmente por cinco segundos. As primeiras gotas foram desprezadas e foi feito o preenchimento da câmara de Neubauer. A diluição foi de 1:200, realizando-se a contagem em câmara de Neubauer, sendo contadas as células em nove quadrados pequenos centrais e o resultado multiplicado por 120. A contagem diferencial leucocitária, foi feita através de esfregaço sanguíneo em lâminas de vidro, fixado com álcool metílico (metanol) durante cinco minutos e posteriormente corado com hematoxilina-eosina (panótico rápido Laborclin®). As lâminas foram lavadas com

---

<sup>4</sup> O soro correspondente a 1ª coleta de sangue, realizada no período anterior a vacinação, foi inutilizado devido a problemas técnicos no armazenamento.



água destilada, secas ao ar livre e os esfregaços foram observados ao microscópio ótico, contabilizando 100 leucócitos. Para contagem leucocitária foram diferenciados os leucócitos granulares (heterófilos, eosinófilos e basófilos) dos não granulares (linfócitos e monócitos), contando-os individualmente.

### **3.14 Resistência óssea**

No último dia experimental foram abatidas oito aves/tratamento e retirados os ossos da tíbia, os quais foram limpos, acondicionados em sacos plásticos previamente identificados e acondicionados em *freezer*, para posterior realização das análises de resistência óssea. Entretanto, a referida análise não pode ser realizada por problemas técnicos durante o armazenamento do material, acarretando na inutilização das amostras.

### **3.15 Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise variância, em um delineamento completamente ao acaso, e, quando significativos, foram determinados os efeitos linear e quadrático do uso de ALL G Rich<sup>®</sup> na dieta através de regressão polinomial. Diferenças significativas foram consideradas se  $P < 0,05$ .

### **3.16 Resultados**

Os resultados obtidos no estudo serão encaminhados para publicação em periódicos científicos na área de Zootecnia e Medicina Veterinária.

## 4 ARTIGO I – Artigo de Revisão

### Fontes de ácidos graxos poli-insaturados na dieta de poedeiras: impactos sobre a qualidade dos ovos e a saúde humana<sup>5</sup>

Ovos enriquecidos com ácidos graxos ômega-3

*Sources of polyunsaturated fatty acids in the diet of laying hens: effects on egg quality and human health*

*Eggs enriched with omega -3 fatty acids*

Santos, V.L.<sup>1\*</sup>, T. A. Rodrigues<sup>1</sup>, I.M. Rosa<sup>2</sup>, M. A. Anciuti<sup>2</sup>, F. Rutz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas. \*Autora para correspondência: [vl\\_sagro@yahoo.com.br](mailto:vl_sagro@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Instituto Federal Sul-rio-grandense, Campus Pelotas/Visconde da Graça.

#### Resumo

São amplamente conhecidos os benefícios que a ingestão de ácidos graxos poli-insaturados proporciona à saúde humana, principalmente os ácidos graxos da série ômega-3. Entretanto, o baixo consumo de alimentos fontes destes nutrientes, principalmente na população ocidental, tem sido associado à distúrbios cardiovasculares, comprometimento em relação a formação de tecido nervoso, cerebral e ao desenvolvimento dos olhos. No intuito de aumentar a disponibilidade de alimentos que sejam fontes destes nutrientes à população, diversas pesquisas vêm sendo realizadas visando o enriquecimento de ovos, visto que, são fonte de proteínas, gorduras e micronutrientes que desempenham um papel importante na nutrição humana e sua composição é alterada segundo a manipulação da dieta da poedeira. O presente artigo de revisão é proposto visando caracterizar o cenário atual sobre o enriquecimento de ovos com ácidos graxos da série ômega-3, através de diversas fontes de alimentos utilizadas na dieta das aves, bem como seus impactos na nutrição humana.

Palavras-chave: algas, DHA, lipídeos, sensorial

#### Abstract

The benefits of omega 3 fatty acids for humans beings are well known. Low human consumption of those nutrient have been associated with cardiovascular diseases, bad nervous tissue composition, poor eye and brain development, among others. Studies have been run to enrich eggs in omega 3 fatty acids using several sources of raw material rich in of omega 3 fatty acids. This review aims to update the present situation of omega 3 enriching eggs, using several dietary omega 3 feed sources. In addition, the impact of the omega 3 fatty acids in human nutrition is also examined.

Key words: algae, DHA, lipids, sensory

#### Introdução

Muitos ensaios realizados em seres humanos e várias experiências com animais demonstram que os ácidos graxos poli-insaturados (AGP's)  $\omega$ -3 estão envolvidos no desenvolvimento e manutenção de vários órgãos e participam na prevenção de diferentes patologias. Os três AGP's considerados de maior importância são o  $\alpha$ -linolénico (18:3 n-3, ALA), o ácido eicosapentaenóico (20:5 n-3, EPA) e ácido docosa-hexaenóico (22:6 n-3, DHA). O DHA exerce importante função no desenvolvimento cerebral e de tecidos da retina em fetos e crianças pequenas, evidenciando a importância de sua adequada ingestão por gestantes (Jordan, 2010). Além disso, os AGP's n-3 têm sido

<sup>5</sup> Artigo formatado segundo as normas da revista "Archivos de Zootecnia"

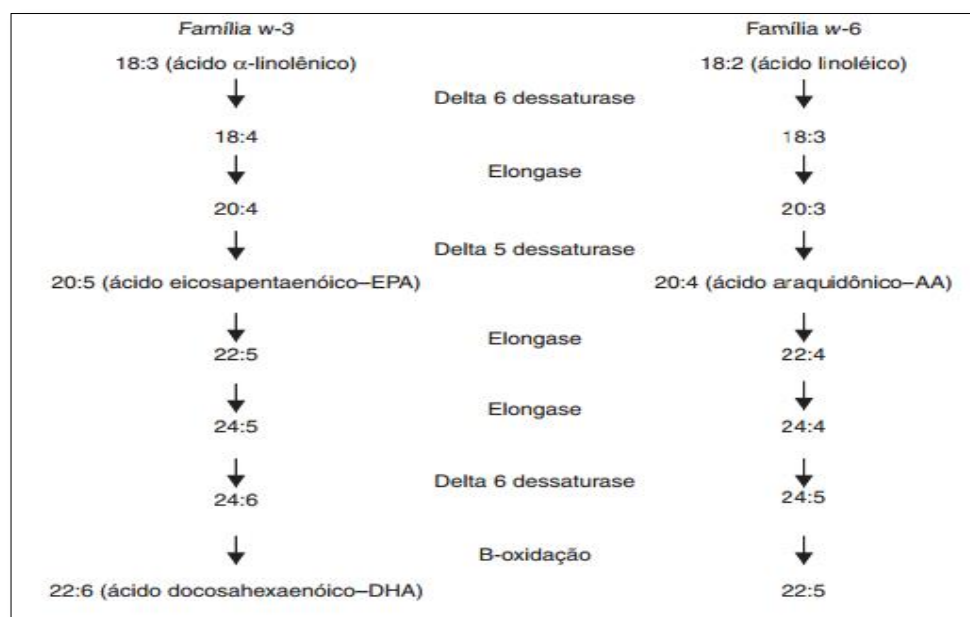
relacionados à prevenção e tratamento de muitas outras doenças crônicas, como doenças neurológicas, câncer, doenças inflamatórias, obesidade e diabetes *melittus* (Yashodhara et al., 2009). De acordo com Fraeye, (2012), mais pesquisas são necessárias para embasar estes efeitos.

No entanto, a dieta ocidental é deficiente em ácidos graxos  $\omega$ -3 e a ingestão diária recomendada destes compostos é raramente cumprida. Os ovos são produtos que apresentam alto potencial para enriquecimento com ácidos graxos poli-insaturados, pois, são consumidos pela maioria da população mundial, como tal ou processados, e porque o perfil lipídico das gemas está estreitamente relacionado com o tipo de lípido consumido pelas aves. Estudos demonstram que a suplementação da dieta de poedeiras com óleos vegetais de linhaça ou canola, óleo de peixes ou, mais recentemente, extratos de algas, aumenta a deposição de ácidos graxos poli-insaturados  $\omega$ -3 na gema dos ovos. Com a presente revisão, objetivou-se compilar estudos científicos recentes sobre o enriquecimento de ovos com AGP's  $\omega$ -3, através de diversas fontes de alimentos utilizadas na dieta das aves, bem como seus impactos na nutrição humana.

## Lipídeos

Segundo, Nelson e Lehninger (2002), os lipídios biológicos constituem um grupo de compostos que, apesar de quimicamente diferentes entre si, apresentam a característica em comum de serem insolúveis em água, representados pelos triacilgliceróis, fosfolipídeos, colesterol, entre outros. Os ácidos graxos, por sua vez, são os principais componentes da estrutura lipídica (Tirapegui, 2000), são ácidos carboxílicos, de cadeia hidrocarbonada, sendo os produtos da hidrólise dos triglicerídeos e encontram-se presentes nas gorduras animal e vegetal, com número par de carbonos, devido à biossíntese, a partir de duas unidades de carbono (Bertechini, 2006). De acordo com a presença ou não de duplas ligações, os ácidos graxos podem ser classificados como saturados (aqueles que não possuem duplas ligações), monoinsaturados (aqueles que possuem uma dupla ligação) e os poli-insaturados (quando são constituídos por duas ou mais duplas ligações). Os ácidos graxos também podem ser divididos em famílias ou séries, dependendo da localização da última ligação dupla em relação ao seu grupamento metílico terminal: como Ômega 6 ( $\omega$ -6) e Ômega 3 ( $\omega$ -3), e são formados a partir dos precursores linolenato (ácido linoleico C18:2,  $\Delta^{9,12}$ ) e  $\alpha$ -linolenato (ácido  $\alpha$ -linolênico, C18:3  $\Delta^{9,12,15}$ ), respectivamente, e de uma série de reações de insaturação e alongamento (Alonso e Maroto, 2000) que podem ser verificadas com detalhes na Figura 1.

Figura 1 Metabolismo dos ácidos graxos  $\omega$ 6 e  $\omega$ 3



Fonte: Borges et al., 2014

## Ácidos graxos essenciais

De acordo com Macari, (2002), a exigência de lipídeos nas dietas de galinhas, frangos de corte e outras espécies superiores está relacionado com pequenas quantidades de ácidos graxos que não podem ser sintetizados pelo organismo, os chamados ácidos graxos essenciais. Os ácidos graxos reconhecidos pela World Health Organization (WHO) como essenciais são o linoleico (LA, C18:2  $\omega$ -6),  $\alpha$ -linolênico (ALA, C18:3 n-3)  $\gamma$ -linolênico (GLA, 18:3  $\omega$ -6) e araquidônico (AA, 20:4  $\omega$ -6) (Alonso e Maroto, 2000). O ácido  $\gamma$ -linolênico, apesar de ser sintetizado a partir do ácido linoleico, é considerado como essencial por existirem evidências da perda desta capacidade de biossíntese com o envelhecimento. O ácido araquidônico é sintetizado a partir da insaturação do ácido  $\gamma$ -linolênico (Murray et al. 2002). De acordo com Suarez-Mahecha et al. (2002), o ácido linoleico e o ácido  $\alpha$ -linolênico são ácidos graxos essenciais porque as duplas ligações, situadas no terceiro e sexto átomos de carbono, não podem ser produzidas pelo organismo humano, de forma que os ácidos graxos essenciais devem ser obtidos a partir da dieta e o ácido  $\alpha$ -linolênico, porém, podem ser alongados e dessaturados pelo sistema enzimático para produzir os ácidos graxos poli-insaturados docosa-hexaenóico e eicosapentaenóico, a partir de óleos vegetais provenientes da alimentação, porém este processo ocorre de forma limitada (Komprda, 2012).

### Fontes

O enriquecimento da dieta de poedeiras com óleos e sementes vegetais, óleos e farinhas de peixes e substratos de algas marinhas, proporciona deposição eficiente de ácidos graxos  $\omega$ -3 nas gemas dos ovos.

### Linhaça

A semente de linhaça (*Linum usitatissimum*) constitui a espécie vegetal mais rica em  $\omega$ -3, formada praticamente por ALA. O óleo de linhaça é composto por 57% de ácidos graxos  $\omega$ -3, 16% de  $\omega$ -6, 18% de ácidos graxos monoinsaturados e somente 9% de ácidos graxos saturados. A predominância de  $\omega$ -3 é três vezes superior ao  $\omega$ -6, fazendo com que seja a maior fonte vegetal de ALA, cinco vezes mais abundante que em nozes ou óleo de canola (Ramcharitar et al., 2005; Oomah, 2006).

Segundo Fraeye et al. (2012) ao longo das últimas duas décadas, a influência da suplementação de dietas com linhaça ou óleo de linhaça sobre o desempenho das aves e as características dos ovos foi amplamente estudada. Desde o final dos anos noventa, ovos enriquecidos com AGP's  $\omega$ -3, produzidos através de suplementação alimentar com linhaça, tornaram-se disponíveis no mercado em muitos países.

Dietas enriquecidas com linhaça resultam, principalmente, em aumento no teor de ALA, (até 200 mg por ovo), mas também em um aumento substancial no teor de DHA, (até 90 mg por ovo), com a utilização de 15% de linhaça (Aymond e Van Elswyk, 1995)

### Óleo e farinha de peixes:

A principal fonte de AGP's  $\omega$ -3 são óleos de peixes gordurosos (Rubio- Rodriguez et al., 2010) pois, se alimentam de fito e zooplâncton (fontes primárias de EPA e DHA). A extração de AGP's dos óleos de peixes é fortemente questionada porque não conseguirá atender a demanda futura, tem risco de contaminação (com metais pesados, compostos orgânicos e dioxinas), possui sabor e aroma desagradáveis, e apresenta pouca estabilidade oxidativa (Ratledge, 2004). Embora o óleo de peixe contenha EPA, bem como DHA, os ovos de galinhas alimentadas com óleo de peixe são enriquecidos, principalmente, com DHA, enquanto o conteúdo de EPA aumenta em menor proporção (Bovet et al., 2007; Cachaldora et al., 2008; Carrillo et al., 2008). Peixes marinhos geralmente apresentam teores mais elevados de  $\omega$ -3 quando comparados aos peixes de água doce, como pode ser observado na Tabela I

Tabela I Conteúdo de AGS  $\omega$ - 3, especificamente EPA e DHA, em peixes brasileiros de água doce e em peixes marinhos (% de peso de quantidade total de AGS)

Peixe	AG $\omega$ 3	
	EPA	DHA
<b>Água Doce</b>		
Curimba ( <i>Prochilodus lineatus</i> )	5,60	3,00
Lambari ( <i>Astyanax sp</i> )	2,60	6,80
Pintado ( <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> )	7,50	21,80
Traíra ( <i>Hoplias spp</i> )	3,40	7,10
Mandi ( <i>Pimelodus maculatus</i> )	1,50	2,00
<b>Marinhos</b>		
Cavalinha ( <i>Equisetum spp</i> )	6,20	13,00
Manjuba ( <i>Anchoviella lepidentostole</i> )	8,80	23,70
Pescada ( <i>Cynoscion sp</i> )	7,70	19,20
Arraia ( <i>Brycon sp</i> )	4,10	11,60
Sardinha ( <i>Sardinella brasiliensis</i> )	24,2	6,5
Atum ( <i>Thunnus sp</i> )	7,8	32,5

Adaptado de Watannabe (1987)

Níveis de inclusão acima de 1,5% de óleo de peixe podem gerar ovos que geralmente apresentam características sensoriais que não são aceitas pelos consumidores ocidentais (Gonzalez-Esquerria & Leeson, 2000). Contudo, a inclusão dietética de óleo de peixe em níveis em torno de 1,5% (nível limiar para caracterizar *off-flavors*) geralmente resulta em níveis de DHA na gema abaixo de 100 mg/ovo (Aymond e Van Elswyk, 1995; Gonzalez-Esquerria e Leeson, 2000; Lawlor et al., 2010). Estes níveis não são muito mais elevados do que os obtidos através da suplementação com linhaça. Lipídeos, especialmente ácidos graxos insaturados, têm sido encapsulados visando diminuir a susceptibilidade à oxidação (Favaro-Trindade et al., 2008), ainda assim, a suplementação alimentar da dieta das aves com óleo de peixe microencapsulado, que se esperaria ter maior estabilidade oxidativa, ainda mantém os impactos sensoriais negativos sobre ovos (Lawlor et al., 2010).

## Algas

As microalgas marinhas têm gerado interesse entre os pesquisadores por ser fonte alternativa terapêutica e biológica de compostos como vitaminas, proteínas com aminoácidos essenciais, polissacarídeos, ácidos graxos mono e poli-insaturados, ácidos nucleicos, minerais, e pigmentos fotossintéticos como carotenóides e clorofilas (Raja et al., 2008) e, segundo Ferreira et al. (2013) constituem uma fonte alternativa potencial na obtenção de ácidos graxos essenciais. As microalgas crescem autotroficamente utilizando luz e dióxido de carbono, e também podem ser cultivadas em sistema heterotrófico, usando compostos orgânicos como energia e fonte de carbono, ou ainda em sistema de cultivo mixotrófico (Ferreira et al., 2013). Exemplos incluem *Isochrysis galbana* e *Nannochloropsis oculata*, conhecidas por apresentarem alto conteúdo de polissacarídeos solúveis e insolúveis e proteínas, bem como o conteúdo significativo de ácidos graxos poli-insaturados. A *I. galbana* contém grandes quantidades de DHA e a *N. oculata* tem uma percentagem mais elevada de EPA (Brown et al., 1997).

Os AGP's de origem microalgal têm um mercado muito promissor na biotecnologia, em especial na indústria de alimentos funcionais (Bertoldi et al., 2008). De acordo com Fraeye et al. (2012), adição de microalgas como fonte de cadeia AGPI's de cadeia longa a dieta de poedeiras é uma forma eficaz de aumentar o nível de DHA nos ovos. Além disso, esta fonte de suplementação oferece várias vantagens em comparação com óleo de peixe, especialmente no que se refere à estabilidade oxidativa dos lípideos.

## Ovos Enriquecidos

O ovo é uma complexa entidade química e biológica (Raes et al., 2002). Greene et al., (2005) recomendam que o ovo deve ser consumido principalmente por pessoas idosas. Qureshi et al., (2007) estudaram um grande número de idosos, os quais consumiam um ou mais ovo por dia e não observaram aumento do risco para doença arterial coronariana. Ainda neste sentido, Djoussi e Graziano (2008) indicam não haver correlação entre o aumento do risco de doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral com a ingestão de ovos. Mutunji et al. (2008) demonstraram não haver nenhum efeito sobre as lipoproteínas de baixa densidade (LDL colesterol) com a ingestão diária de dois ovos por seis semanas. De acordo com Ruxton et al, (2010), na medida em que mais pesquisas são realizadas, maior é o estímulo ao consumo de ovos, visto que dados científicos contribuem para esclarecer os efeitos dos alimentos na nutrição humana e no bem-estar das pessoas.

Houwe et al. (2002), adicionaram farinha de atum à dieta de poedeiras e constataram aumento significativo nos valores de DHA nas gemas dos ovos. Após duas semanas recebendo a dieta experimental os níveis de DHA já eram bem superiores, demonstrando rápida incorporação deste ácido graxo às gemas.

Oliveira et al. (2010), avaliaram o perfil lipídico de gemas de ovos de aves alimentadas com três diferentes fontes de lipídeos (óleos de soja, girassol e linhaça) contra um tratamento controle. Os ovos das aves alimentadas com óleo de soja apresentaram maior quantidade de AGPI's da série  $\omega$ -6, enquanto os ovos produzidos por aves que consumiram óleo de linhaça apresentaram maior quantidade de AGP's da série  $\omega$ -3.

Aymond e Van Elswyk (1995) enriqueceram a dieta de poedeiras com 15% de semente de linhaça moída, constatando que o conteúdo do ácido graxo poli-insaturado ALA dos ovos aumentou de 13 para 212 mg/ovo, enquanto o conteúdo de DHA aumentou de 28 a 90 mg/ovo. Isto indica que as galinhas são capazes de converter ALA em DHA. A maioria dos autores relata que a conversão é bastante limitada, semelhante como em seres humanos. Isto ocorre devido a baixa atividade das enzimas de dessaturação envolvidas na conversão do ALA. Segundo Cachaldora et al. (2008), a eficiência da conversão é afetada por vários fatores, como a presença de quantidades elevadas de AGP's  $\omega$ -6 na dieta (o que aumenta a competição para as enzimas dessaturases, causando uma diminuição na eficiência de conversão do ALA); Fredriksson et al. (2006) relatam que a idade e linhagem das galinhas exercem efeito sobre a eficiência de alongação e dessaturação do ALA. Tem sido postulado que as aves mais velhas possuem o fígado maior, permitindo uma conversão mais eficaz de ALA em DHA. Cachaldora et al. (2008), avaliaram os ovos de galinhas alimentadas com dietas ricas em ambos ALA e EPA/DHA e observaram que tanto o excesso quanto a deficiência de ácidos graxos de cadeia longa limitam a conversão de ALA, concluindo que a eficiência de conversão depende principalmente da quantidade total de AGP's  $\omega$ -3 na dieta, bem como suas proporções relativas.

Saphira et al. (2008) ao contrastarem o teor lipídico de ovos de aves alimentadas com a inclusão de 5% de linhaça contra um grupo controle, observaram que os ovos do grupo suplementado com linhaça resultaram em um aumento de 3,8 vezes no total de AGP's  $\omega$ -3, 6,4 vezes de ALA, e 2,4 vezes de DHA após cinco semanas de experimento.

Bruneel et al. (2013), suplementaram a dieta de poedeiras com microalgas (tratamento controle, 5% e 10% de inclusão de microalgas) e analisaram o teor lipídico dos ovos nos dias 0 (zero), 14 e 28 dias (término da suplementação) e 42 dias após o início do experimento. Os autores observaram que houve aumento no teor de ácidos graxos  $\omega$ -3 nos ovos das aves alimentadas com as microalgas nos períodos de 14 e 28 dias, diferindo do tratamento controle, porém, não houve diferença estatística entre os teores de ácidos graxos poli-insaturados, quando comparados os resultados de 14 e 28 dias. A análise realizada aos 42 dias, quando todas as aves já estavam sendo alimentadas com a dieta controle há 14 dias, demonstrou que o nível de ácidos graxos poli-insaturados diminuiu e foi compatível ao do tratamento controle para todos os grupos avaliados.

Lemahieu et al. (2015), avaliaram o perfil lipídico de ovos de poedeiras Isa Brown, testando quatro fontes de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (linhaça, *Isochrysis galbana*, óleo de peixe e DHA ouro<sup>®</sup>) de tal maneira que a mesma quantidade extra de AGPI  $\omega$ -3 (120 mg por 100 g de alimentação) foi adicionado à dieta. A menor eficiência de enriquecimento ( $\approx$ 6%) foi observada quando a linhaça (fonte de ALA) foi adicionada. Níveis drasticamente superiores de enriquecimento foram observados com a suplementação das outras três fontes de AGP's, diferindo entre si no teor de enriquecimento, sendo  $\approx$ 55% para o óleo de peixe,  $\approx$ 30% para *Isochrysis galbana* e  $\approx$ 45% para o DHA ouro<sup>®</sup>, o que os autores atribuíram às diferentes bio-acessibilidades dos perfis de AGPI  $\omega$ -3 das três fontes.

Fredriksson et al. (2006), adicionaram *Nannochloropsis oculata*, uma espécie contendo tanto EPA e ALA, à alimentação das galinhas, observaram baixas concentrações de EPA e aumento significativo no nível de DHA na gema dos ovos, especialmente na fração fosfolipídica, em detrimento dos ácidos graxos poli-insaturado da série  $\omega$ -6. Resultados semelhantes foram obtidos em estudo conduzido por Foubert et al., (2011) utilizando *N. gaditana*.

Lawlor et al.,(2010) avaliaram a transferência de DHA e EPA e atributos sensoriais de ovos produzidos por aves recebendo quatro dietas, com diferentes níveis de inclusão de óleo de peixe microencapsulado (OPM), nas doses de 0 (controle), 20, 40, ou 60 g/kg de ração do produto. As dietas foram oferecidas durante 21 dias e os autores observaram aumento de 141 mg/gema (0 g/kg de OPM) para 299 mg/gema (60 g/kg OPM). As diferenças de atributos sensoriais entre os tratamentos pareceram ser dependentes do método de preparação (cozidos ou mexidos). Diferenças significativas entre os tratamentos foram encontrados para amostras cozidas, as quais foram classificadas com maior "off-flavor" e "sabor de enxofre". Nenhuma diferença sensorial significativa foi encontrada nas amostras de ovos mexidos. Os resultados fornecem evidências de que o uso de óleo de peixe microencapsulado pode servir como um veículo eficaz para aumento do teor de AGPI's da série  $\omega$ -3, no entanto, o potencial para alguns atributos sensoriais adversos está presente nos níveis mais elevados de incorporação.

Gonzales-Esquera e Leeson, (2000) relatam que inclusão de até 60 g/kg óleo de savelha (*Alosa fallax*) (contendo 110 g/kg EPA e 90 g/kg DHA) em rações de poedeiras produziram ovos contendo aproximadamente 150-200 mg de DHA/ovo e 45-60 mg de EPA/ovo.

## Ácidos graxos de cadeia longa e a importância para a saúde humana

A necessidade de produtos alimentares e de ingredientes que proporcionem benefícios, além do seu tradicional valor nutricional, criaram um grande interesse acadêmico e comercial (Yalçın e Uenal, 2010) por este nicho de mercado. Assim, a prevenção de doenças e a promoção da saúde através do consumo de alimentos funcionais e nutracêuticos têm recebido considerável atenção global, e diferentes produtos, com estas características, já estão disponíveis no mercado. Uma das principais classes de compostos nutracêuticos são os fenólicos e a segunda são os ácidos graxos  $\omega$ -3 (Shaiadi, 2005).

Todos os  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 são considerados essenciais para os seres humanos e devem ser provenientes da dieta (Rubio- Rodriguez et al., 2010). Embora nos animais o 18:2 $\omega$ -6 e o 18:3  $\omega$ -3 possam ser convertidos em AA, EPA e DHA, as taxas de conversão são baixas, portanto são considerados essenciais. É importante ressaltar que as duas séries modulam o metabolismo e o transporte do colesterol, formando parte das lipoproteínas a eles associadas.

O consumo de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, em particular os que pertencem à série  $\omega$ -3, EPA e DHA, ocorre principalmente através do consumo de frutos do mar, apresentando níveis geralmente baixos na chamada dieta "ocidental" ,Schmidt, (2001), além disto, estes alimentos também são fontes ricas de outros nutrientes, tais como proteínas, várias vitaminas (por exemplo, A, D, B12) e minerais (por exemplo, iodo e selênio), e outros compostos bioativos, incluindo os carotenóides com propriedades antioxidantes (por exemplo, a astaxantina), fitoesteróis relacionados com os efeitos hipocolesterolêmicos, e o aminoácido taurina, ligados a efeitos cardioprotetores (Larsen, 2011).

Os ácidos graxos essenciais de cadeia longa: AA; EPA e DHA fazem parte da estrutura dos fosfolipídeos, que são componentes importantes das membranas e da matriz estrutural de todas as células. Além de seu papel estrutural, esses lipídeos podem também modular a função celular ao atuarem como mediadores intracelulares da transdução de sinais e como moduladores das interações entre células (Carmo e Correia, 2009). Estes três AGPI's foram os mais caracterizados devido aos comprovados efeitos benéficos na saúde humana. O DHA está presente nas membranas cerebrais e na retina; o AA nas membranas cerebrais; e o EPA no sistema cardiovascular (Ward e Singh, 2005).

Benefícios nutricionais e medicinais do EPA e DHA têm sido bastante discutidos. Entre os efeitos fisiológicos nos humanos, estão a prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, hipertensão, inflamações em geral, asma, artrite, psoríase e vários tipos de câncer (Suarez-Mahecha et al., 2002) além de diminuição de arritmias, disfunção endotelial, níveis de triglicérides circulantes (Burilo e Mosafarian, 2012).

Dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados  $\omega$ -6 produzem grande quantidade de metabólitos do AA que contribuem fortemente para a formação de trombos e ateromas, desenvolvimento de alergias e desordens inflamatórias, além da proliferação celular (Simopolus, 2000). Neste sentido, Carmo e Correia, (2009) relatam que

alguns mecanismos pelos quais os AGP's  $\omega$ -3 podem modificar o processo de carcinogênese foram propostos: supressão da biossíntese dos eicosanoides derivados do AA, o que resulta em alteração da resposta imunológica às células tumorais e modulação da inflamação; impacto na proliferação celular, na apoptose, na disseminação de metástases e na angiogênese; influência na atividade do fator de transcrição nuclear, na expressão gênica e nas vias de transdução de sinais, levando a mudanças no metabolismo celular, crescimento e diferenciação das células; alteração no metabolismo do estrogênio, o que gera menor estímulo ao crescimento das células hormônio dependentes; aumento ou diminuição da produção de radicais livres, e relação direta com a sensibilidade à insulina e à fluidez das membranas, embora estes mecanismos careçam de estudos mais aprofundados. Evidências apontam que esses lipídeos possuem a capacidade de modificar as funções celulares, modulando a estrutura e função de domínios lipídicos específicos dentro da membrana plasmática, de acordo com Siddiqui et al. (2007).

De acordo com Yalçin e Ulnal (2010), os ácidos graxos  $\omega$ -3 têm um efeito importante na estrutura e função do cérebro, sendo requeridos para diferenciação e funcionamento das células. Deficiências de ALA alteram o desenvolvimento cerebral e perturbam a composição e propriedades físico-químicas das membranas celulares do cérebro. Isto leva a modificações físico-químicas e bioquímicas e induz a perturbações fisiológicas, e resulta em comportamento neurossensorial deprimido. O ALA presente na dieta de recém-nascidos (especialmente prematuros) influencia as habilidades visuais, cerebrais, e intelectuais. Além disso, AGPI's  $\omega$ -3 estão envolvidos na prevenção de alguns transtornos neuropsiquiátricos, particularmente depressão, bem como em demência e, em particular, na doença de Alzheimer, em idosos (Bourre, 2004).

Estudos experimentais têm demonstrado que a depleção de DHA no desenvolvimento da retina e do cérebro resulta em diminuição da função visual com anormalidades no eletroretinograma, *deficits* de aprendizado e alterações no metabolismo de dopamina e serotonina (De La Presa, 1999).

### **Razão entre os ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 e Recomendações de Ingestão Diária (RID)**

A razão entre AGP's  $\omega$ -6 e  $\omega$ -3 é importante para a saúde humana, uma vez que há competição entre as enzimas envolvidas no alongamento e dessaturação, tanto do ácido linoléico quanto do ácido alfa-linolênico, os quais não podem se interconverter (Brandão et al. 2005; Simopoulos, 2006).

Segundo Ramin et al, (2013), atualmente os índices de relação entre  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 nas dietas ocidentais pode chegar de 10:1 à 25:1, resultado, provavelmente, do grande consumo de produtos industrializados e *fast foods*, podendo estar relacionado ao elevado índice de obesidade daquela população.

Uma proporção de 4:1, ou menos é considerada ótima no alongamento de cadeia de 11g de ácido alfa-linolênico em 1g de EPA. O Instituto do Coração de Lyon (França), recomenda a razão entre  $\omega$ -6: $\omega$ -3 de 4:1 (Simopoulos, 2000; Simopoulos, 2006).

Em ovos enriquecidos com óleo de peixe e óleo de canola é possível encontrar proporção ainda menor, podendo chegar a 2:1 (Lewis et al., 2000; Mazalli et al., 2004).

De acordo com Bertechini e Mazzuco, (2015), a relação  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 são de 7:1 em ovos regulares, nos ovos enriquecidos com AGP's  $\omega$ -3, os valores variam ao redor de 3,7:1, ou menos. Portanto, atende a recomendação dietética (Simopoulos, 2008; Deckelbaum, 2010).

Atualmente, as agências internacionais divergem a respeito da recomendação de ingestão diária, como pode ser observado na Tabela II.

Como esse desequilíbrio é promotor de doenças graves, diferentes organizações internacionais recomendaram a introdução de ARA ou AA, EPA e DHA nas fórmulas infantis e nos suplementos nutricionais para adultos e para mulheres grávidas ou em aleitamento.



Tabela II: Recomendação de ingestão diária dos AGPI  $\omega$ 6 e  $\omega$ 3 segundo diferentes agências internacionais

	EFSA <sup>1</sup>	ISSFAL <sup>2</sup>	AHA <sup>3</sup>	USDA e HHS <sup>4</sup>	AHN <sup>5</sup>
Adultos saudáveis	250 mg/dia EPA/DHA		500mg/dia EPA/DHA		250mg/dia EPA/DHA
Grávidas e Lactantes	250mg EPA + DHA/dia, + 100-200mg DHA			Consumir entre 12 porções de frutos do mar por semana, (baixos em metil-mercúrio)	300 mg/dia de EPA/DHA, dos quais, pelo menos, 200mg/dia deverão ser DHA
Adultos com doença cardiovascular		500mg/dia EPA/DHA			
População em geral			Duas porções de peixe “gordo” por semana	250 mg/dia EPA e DHA	
Pessoas com doenças coronarianas			1000 mg/dia $\omega$ -3 EPA/DHA		
Pessoas com triglicerídeos elevados			2000 a 4000 mg/dia $\omega$ -3 EPA/DHA		

<sup>1</sup>European Food Safety Authority, 2010; <sup>2</sup>ISSFAL (International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids) 2004; <sup>3</sup>AHA American Heart Association, 2002; <sup>4</sup> USDA US Dept of Agriculture and HHS Department of Health and Human Services; <sup>5</sup>Acids in Human Nutrition 2010. **Fonte:** adaptado de Lichstein et al., 2006; Interim Summary of Conclusions and Dietary Recommendations on Total Fat & Fatty Acids; Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol

Estudos de prevenção secundária, utilizando 850 mg a 4 g EPA e DHA diariamente têm demonstrado uma redução significativa da mortalidade total e morte súbita (20% a 50%) com tratamentos de duração de 12 a 42 meses, em pacientes com doença coronariana ou infarto do miocárdio prévio (Jacobsen, 2006). Deve notar-se que os ensaios clínicos de intervenção que envolvem consumo de AGPI  $\omega$ -3 durante períodos limitados mostram benefícios cardiovasculares limitado quando comparados com os resultados de estudos epidemiológicos com populações caracterizadas por um tempo de vida que consomem dietas ricas em nutrientes (Robinson, 2006). Além disso, a variação dos efeitos da suplementação na prevenção primária e secundária da doença coronariana entre os estudos é afetada por vários fatores, incluindo a dieta basal, meio de suplementação, os fatores genéticos e etnia.

### Ovos enriquecidos com $\omega$ -3 e a Legislação

De acordo com Kus e Mancini-Filho, (2010), há um crescente apelo nas embalagens de alimentos pela utilização de “anúncios” sobre os benefícios dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPI-CL).

Em 2005, a *Joint Health Claims Intuitive* (JHCI) liberou a utilização de anúncios para AGPI  $\omega$ -3 em relação àqueles alimentos que forneçam 3 g semanais ou 0,45 g diárias de AGPI-CL  $\omega$ -3, sendo estes ácidos graxos provenientes de cadeias longas, no mínimo 0,2 g de AGPI-CL  $\omega$ -3 por porção do alimento. Satisfazendo estas exigências, os rótulos podem conter na informação nutricional “Boa fonte de  $\omega$ -3”, com o alimento devendo conter 0,5 g de AGPI-CL  $\omega$ -3; e “Fonte rica em  $\omega$ -3”, devendo estar presente no alimento 1,5 g de AGPI-CL  $\omega$ -3 (valores baseados na ingestão semanal).

A *European Commission Regulation 116/2010*, relativa às reivindicações sobre o uso de propagandas em alimentos relacionadas à nutrição e a saúde, estabelece que para rotular um produto como “Elevado teor em AGPI’s  $\omega$ -3”, o mesmo deve conter cerca de 6 g de ácido linoleico ALA por kg de alimento ou 100 kcal ou 0,80 g de EPA + DHA, em 1 kg ou 100 kcal de alimentos (Lamas et al., 2015).

No que diz respeito à legislação brasileira, a ANVISA (2008) estabelece que: “O consumo de ácidos graxos  $\omega$ -3 auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos, desde que associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.

De acordo com a RDC Nº 54, de 12 de Novembro de 2012, para que um alimento possa trazer em seu rótulo a alegação “fonte de ômega 3” deve conter o mínimo de 300 mg de ácido alfa-linolênico por 100 g ou 100 ml em pratos preparados conforme o caso ou o mínimo de 40 mg da soma de EPA e DHA por porção.

Para que a alegação “alto conteúdo de ômega 3” seja válida, o alimento deve conter o mínimo de 600 mg de ácido alfa-linolênico por 100 g ou 100 ml em pratos preparados conforme o caso ou o mínimo de 80 mg da soma de EPA e DHA por porção (Brasil, 2012).

## Conclusão

Os efeitos benéficos provenientes da ingestão de AGPI’s  $\omega$ -3 à saúde podem ser atribuídos principalmente ao EPA e DHA. Devido à fácil modificação da composição lipídica da gema através da alimentação das aves e ao fato de que os ovos são considerados alimentos potencialmente funcionais, nos últimos anos, vários estudos têm sido realizados visando à incorporação de AGPI’s  $\omega$ -3 na gema dos ovos comerciais, através da suplementação de fontes ricas nestes ácidos graxos como, por exemplo, através de sementes vegetais como a linhaça, entretanto, devido a conversão metabólica relativamente limitada de ALA em EPA, em seres humanos e aves, a suplementação alimentar com fontes que forneçam diretamente o DHA parece ser mais eficiente no que diz respeito à deposição deste nos tecidos. Óleos ou farinhas de peixe demonstram ser ricas fontes de DHA, contudo, diversas pesquisas demonstram que a suplementação de dietas de aves com estes produtos leva à rejeição dos ovos pelos consumidores devido à transferência de sabor e odor desagradáveis ao paladar humano. Pesquisas mais recentemente demonstram que microalgas marinhas constituem-se em uma fonte eficaz para aumentar o nível de DHA em ovos, oferecendo vantagens em relação ao óleo de peixe como a não transferência de sabor ou odor aos ovos e maior estabilidade oxidativa dos lípidos, contudo, são necessários estudos mais aprofundados que abranjam os diferentes gêneros e espécies de microalgas, bem como sua composição e seus impactos sobre o metabolismo das aves e qualidade dos ovos.

O enriquecimento de ovos com AGPI’s da série  $\omega$ -3 constitui-se em uma alternativa importante para incrementar a ingestão destes nutrientes, tornando-os acessíveis à dieta de grande parte da população.

## Referências

- Alonso, D.L. e Maroto, F.G. 2000 Plant as ‘chemical factories’ for the production of polyunsaturated fatty acids. *Biotechnology Advances.*,18: 481-497.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária – 2008. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas.
- Aymond W.M.; Van Elswyk, M.E. 1995. *Yolk thiobarbituric acid reactive substances and n-3 fatty acids in response to whole and ground flaxseed.* *Poult. Sci.*, 74: 1388-1394.
- Bertechini, A. G. 2006. *Nutrição de monogástricos.* Lavras: Editora UFLA, 2006. 301p.
- Bertechini, A.G.; Mazzuco, H. 2015. *Ovo de consumo: uma revisão.* *Avicultura Industrial*, n.2,p. 40-47.

- Bertoldi, F.C.; Sant'Anna, E. e Oliveira, J.L.B. 2008. Revisão: Biotecnologia de microalgas. Boletim CEEPA.,26: 9-20.
- Borges, M.C.; Santos, F.M.M.; Telles, R.W.; Correia, M.I.T.D.; Lanna, C.C.D. 2014 Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos? RBR.,54: 459-466.
- Bourre, J.M. 2004. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during ageing. *J Nutr Health Angin.*,8: 163–174.
- Bovet, P.; Faeh, D.; Madeleine, G.; Viswanathan, B.; Paccaud, F. 2007. Decrease in blood triglycerides associated with the consumption of eggs of hens fed with food supplemented with fish oil. *Nutr, metab, Cardovasc Dis.*,17: 280-287.
- Brandão, P.A.; Costa, F.G.P.; Barros, L.R. et al. 2005. Ácidos graxos e colesterol na alimentação humana. *AGROTE.*,26: 5-14.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada , RDC N° 54, DE 12 DE NOVEMBRO DE 2012.
- Brown, M. R., Jeffrey, S. W. Volkman, J. K., & Dunstan, G. A. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture.*,151: 315–331.
- Bruneel, C., Lemahieu, C., Fraeye, I., Ryckebosch, E., Buyse, J., Muylaert, K., Foubert, I. 2013. Impact of microalgal feed supplementation on omega-3 fatty acid enrichment of hen eggs. *J Funct Foods.*, .5: 897-904.
- Burillo E, Martin-Fuentes P, Mateo-Gallego R, Baila-Rueda L, Cenaarro A, Ros E, et al. 2012. Omega-3 fatty acids and HDL. How do they work in the prevention of cardiovascular disease? *Curr Vasc Pharmacol.*, 10: 432-441.
- Cachaldora, P., Garia-Rebollar, P., Alvarez, C., Mendez, J., & De Blas, J. C. 2008. Double enrichment of chicken eggs with conjugated linoleic acid and n-3 fatty acids through dietary fat supplementation. *Anim Feed Sci Technol.*,144: 315–326.
- Carrillo, S., Lopez, E., Casas, M. M., Avila, E., Castillo, R. M., Carranco, M. E., et al. 2008. Potential use of seaweeds in the laying hen ration to improve the quality of n-3 fatty acid enriched eggs. *J Appl Phycol*, 20: 721–728.
- COMMISSION REGULATION (EC) No 116/2010 of 9 February 2010, amending Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council with regard to the list of nutrition claims. *Official Journal of the European Union*, L37, 16–18.
- Deckelbaum, R.J. 2010. n-6 and n-3 Fatty acids and atherosclerosis: ratios or amounts? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* ; 30:2325–6.
- De La Presa, O.S.; Innis, S.M. 1999. Docosaehaenoic and arachidonic acid prevent a decrease in dopaminergic and serotonergic neurotransmitters in frontal cortex caused by a linoleic and alpha-linolenic acid deficient diet in formula-fed piglets. *J Nutr.*, 129: 2088-2093.
- Djousse, L.; Graziano, J.M. 2008. Egg consumption and risk of heart failure in the Physicians Health Study. *Circulation.*,117: 512–516.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA); Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans

fatty acids, and cholesterol. **European Food Safety Authority Journal** 2010; 8(3):1461. [107 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1461. Available online: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu).

- Favaro-Trindade, C. S.; Pinho, S. C.; Rocha, G. A. 2008. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *BJFT*,11: 103-112.
- Ferreira, S. P.; Souza-Soares, L.; Costa, J. A. V. 2013). Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. *RBCA*. 36: 275-287.
- Foubert, I.; Bruneel, C.; Fraeye, I.; Muylaert, K.; Buyse, J. 2011. Effect of algal feed supplement on omega 3 enrichment in eggs. Poster presentation at the 4th congress of the international society for applied phycology, June 19–24, Halifax, Canada.
- Fraeye, I.; Brunell, C.; Lemahieu, C.; Buyse, J.; Muylaert, K.; Foubert, I. 2012 Dietary enrichment of eggs with ômega-3 fatty acids: A review. *Food Res Intern.*,8: 961-969.
- Fredriksson, S., Elwinger, K., & Pickova, J. 2006. Fatty acid and carotenoid composition of egg yolk as an effect of microalgae addition to feed formula for laying hens. *Food Chem.*, 99: 530–537.
- Gonzales-Esquera, R.; Leeson, S. 2000. Effect of feeding hens regular or deodorized menhaden oil on production parameters, yolk fatty acid profile and sensory quality of eggs. *Poult Sci.*, 59: 1597-1602.
- Greene, C.M.; Zern, T.L.; Wood, R.J.; Shrestha, S.; Aggarwal, D.; Sharman, M.J.; Volek, J.S.; Fernandez, M.L. 2005. Maintenance of the LDL cholesterol:HDL cholesterol ratio in an elderly population given a dietary cholesterol challenge. *J Nutr.*,135:2793–2798.
- Howe, P.R.C.; Downing, J.A.; Grenyer, B.F.; Bryden, W.I. 2002. Tuna fishmeal as a source of DHA for n-3 PUFA enrichment of pork, chicken, and eggs. *Lipids*, 37:1067-1076.
- FAO/WHO Interim Summary of Conclusions and Dietary Recommendations on Total Fat & Fatty Acids; From the Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition, November 10-14, 2008, WHO HQ, Geneva. Available online:<http://www.fao.org/ag/agn/nutrition/docs/Fats%20and%20Fatty%20Acids%20Summary.pdf>
- Jacobson T.A. 2006. Secondary prevention of coronary artery disease with omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol.*98:61–70.
- JHCI – Joint Health Claims Intuitive, (2005) UK. JHCI generic claims – omega-3 PUFA and heart health.
- Jordan, R. G. 2010. Prenatal omega-3 fatty acids: Review and recommendations. *J Midwifery Women's Health*, 55:520–528.
- Komprda T. 2012. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids as inflammation-modulating and lipid homeostasis influencing nutraceuticals: a review. *J Funct Foods.*,4:25–38.
- Kus, M. M. M.; Mancini-Filho, J. 2010. Funções plenamente reconhecidas de nutrientes - ácidos graxos: eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA). Série de Publicações ILSI Brasil. São Paulo: ILSI Brasil ., 17:3-19
- Lamas, A.; Antom, X.; Miranda, J.M.; P. A. Roca-Saavedra.; Cardelle-Cobas, A.; Rodriguez, J.A.; Franco, C. M.; A. Cepeda, A. 2015. Technological development of functional egg products by an addition of n-3 polyunsaturated-fatty-acid-enriched oil, *CyTA - Journal of Food*. Disponível em <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2015.1100220> Acesso: jan/2016.

- Larsen R., Ellertsen K.-E., Elvevoll E.O. 2011. Health benefits of marine foods and ingredients. *Biotechnol Advances.*,9: 508–518.
- Lawlor, J.B.; Gaudette, N.; Dickson, T.; House, J.D. 2010. Fatty acids profile and sensory characteristics of table eggs from laying hens fed diets containing microencapsulated fish oil. *Anim Feed Sci Technol.*, 156:97–103.
- Lemahieu, C., C. Bruneel, E. Ryckebosch, K. Muylaert, J. Buyse, and I. Foubert. 2015. Impact of different omega-3 polyunsaturated fatty acid (n-3 PUFA) sources (flaxseed, Isochrysis galbana, fish oil and DHA Gold) on n-3 LC-PUFA enrichment (efficiency) in the egg yolk. *J. Funct. Foods.*, 19: 8281-8287
- Lewis, N.M.; Seburg, S.; Flanagan, N.L. 2000. Enriched egg as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids for humans. *Poult Sci.*,79: 971-974.
- Lichtenstein A.H., Appel L.J., Brands M., Carnethon M., Daniels S., Franch H.A. 2006. Diet and lifestyle recommendations revision - A scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation. Epub.* Jun 19. v.114, p.82–96.
- Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzales, 2002. E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. 375p
- Mazalli, M.R.; Faria, D.E.; Salvador, D. et al. 2004. A comparison of the feeding value of different sources of fats for laying hens: 1. Performance characteristics. *J Appl Poult Res.*, 13: 274-279, 2004.
- Murray, R.K.; Granner, D.K.; Mayes, P.A. E Rodwell, V.W. 2002. Harper: Bioquímica. 9ª ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 860p
- Mutungi, G. et al. 2008. Dietary cholesterol from eggs increases plasma HDL cholesterol in overweight men consuming a carbohydrate-restricted diet. *J Nutr, Bethesda.* 138: 272-276.
- Nelson, D. L. & Cox, Lehninger, M. (2002). Princípios de bioquímica. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- Oliveira, D.D.; Baião, N.C.; Cancado, V.S.; Grimaldi, R.; Souza, M.R.; Lara, L.J.C.; Lana, A.M.Q. 2010. Effects of lipid sources in the diet of laying hens on the fatty acid profiles of egg yolks. *Poult Sci.*, 89: 2484–2490.
- Oomah, B.D.; Der, T.J.; Godfrey, D.V. 2006. Thermal characteristics of Flaxseed (*linum usitatissimum* L.) proteins. *Food Chem.* p.495-502.
- Qureshi, A.I.; Suri, M.F.K.; Ahmed, S.; Nasar, A.; Divani, A.A.; Kirmani, J.F. 2007. Regular egg consumption does not increase the risk of stroke or cardiovascular disease. *Med Sci Monit.*,13: 1–8.
- Raes, K.; Huyghebaert, G.; De Smet, S.; Nollet L.; Arnouts, S.; Demeyer, D. 2002. The Deposition of Conjugated Linoleic Acids in Eggs of Laying Hens Fed Diets Varying in Fat Level and Fatty Acid Profile. *J Nutr.*, 132: 182-189.
- Raja, R.; Hemaiswarya, S.; Kumar, N. A.; Sridhar, S.; & Rengasamy, R. A. 2008. Perspective on the biotechnological potential of microalgae. *Critical Reviews in Microbiology.*,34: 77–88.
- Ramcharitar, A.; Badrie, N.; Mattfeldt-Beman, M.; Matsuo, H.; Ridley, C. 2005. Consumer acceptability with). Muffin flaxseed (*Linum usitatissimum*). *J Food Sci*, v.70, n.7.

- Ramin, I.; Roya, K.; Sharareh, B.; Kianoush, K.D.; Sanam, F. 2013. Comparison of long chain polyunsaturated fatty acid content in human milk in preterm and term deliveries and its correlation with mothers' diet. *Journal of Res Med Sci*. January; v.18: 1–5.
- Ratledge, C. 2004. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single cell oil production. *Biochimie*. 86: 807-815.
- Robinson J.G., Stone N.J. 2006. Antiatherosclerotic and antithrombotic effects of omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol.*, 98: 39–49.
- Rubio-Rodríguez, N., Beltrán, S., Jaime, I., De Diego, S., Sanz, M.T., Rovira, J. 2010. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: a review. *IFSET.*, 11: 1–12.
- Ruxton, C.H.S.; Derbyshire, E.; Gibson, S. 2010. "The nutritional properties and health benefits of eggs", *Nut & Food Sci.*, 40: 263 – 279.
- Saphira, N.; Weill, P.; Loewenbach, R. A. 2008. Egg fortification with n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA): Nutritional benefits versus High n-6 PUFA western diets, and consumer acceptance. *Isr Med Assoc J.*,10: 262-265.
- Schmidt E.B., Christensen J.H., Aardestrup I., Madsen T., Riahi S., Hansen V.E., Skou H.A. 2008. Marine n-3 fatty acids: Basic features and background. *Lipids.*, 6:65-68.
- Shahidi F. 2005. Nutraceuticals and functional foods in health promotion and disease prevention. U.R. Palaniswamy, L.E. Craker, Z.E. Gardner (Eds.), *Proceedings of WOCMAP III, Vol. 6: Traditional medicine and nutraceuticals, acta horticulturae 680, Int J Agr Sci, Belgium*, pp. 13–24
- Shahidi F. 2007. Nutraceuticals and functional food components in health promotion and disease prevention. In: 2nd International Congress on Food and Nutrition. Tubitak, \_Istanbul, pp. 13–24. [http://www.lib.teiep.gr/images/stories/acta/Acta%20680/680\\_1.pdf](http://www.lib.teiep.gr/images/stories/acta/Acta%20680/680_1.pdf)
- Siddiqui, R.A.; Harvey, K.A.; Zaloga, G.P. 2007. Modulation of Lipid Rafts by omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Cancer: Implications for Use of Lipids During Nutritional Support. *Nut Clin Practic.*,22: 74-88.
- Simopoulos, A.P. 2000. Symposium: role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA. *Poult Sci.*,79: 961- 970.
- Simopoulos, A.P. 2006. The omega-6/omega-3 ratio: the scientific evidence and the need to return the omega-3 fatty acids into eggs and other foods. In: SIM, J.; SINWOO, H.H. (Ed). *The amazing egg: nature's perfect functional food for health promotion*. Edmonton: University of Alberta, p.195-218, 2006.
- Simopoulos, A. P. 2008. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. *Asia Pacific J Clin Nutr.*, 17: 131-4.
- Souza Carmo, M.C.N.; Correia, M. I. D. T. 2009. A Importância dos Ácidos Graxos Ômega-3 no Câncer. *Rev Bras Cancerol.*, 55:279-28.
- Suarez-Mahecha, H.; Francisco, A.; Beirão, L.H.; Block, J. M.; SaccoL, A.; Pardo-Carrasco, S. 2002. A importância dos ácidos graxos poli-insaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. *B. Inst. Pesca.*,28: 101-110.
- Tirapegui, J. 2000. *Nutrição: fundamentos e aspectos atuais*. São Paulo: Atheneu, 304p.

- Watanabe, T. 1987. Requerimientos de ácidos grasos y nutrición lipídica en los peces. *Nutrición en Acuicultura II*, 319: 99-166.
- Ward, O P.; Singh, A. 2005. Omega-3/6 fatty acids: alternative sources of production. *Process Biochem.*, 40: 3627-3652.
- Yalçin, H.; Unal, M.K. 2010. The enrichment of hen eggs with omega-3 fatty acids. *J Med Food.*,3: 610-614.
- Yashodhara, B. M., Umakanth, S., Pappachan, J. M., Bhat, S. K., Kamath, R., & Choo, B. H. 2009. Omega-3 fatty acids: A comprehensive review of their role in health and disease. *Postgrad Med J.*, 85: 84–90.

1 **5 ARTIGO II**

2

3

4

5

6 **Microalgas marinhas (*Schizochytrium* sp) na dieta de poedeiras comerciais: desempenho**  
7 **zootécnico e parâmetros imunológicos**

8

9 V. L. Santos\*<sup>6</sup>, C. L. Contreira\*, M. A. Anciuti<sup>‡</sup>, F. P. Gentilini<sup>‡</sup>, F. Rutz\*

10

11 \* *Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia*

12

13 *<sup>‡</sup>Instituto Federal Sul-rio-grandese, campus Visconde da Graça*

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

---

<sup>6</sup> Autora para correspondência: [vls\\_agro@yahoo.com.br](mailto:vls_agro@yahoo.com.br) Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia , 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.



## 28 RESUMO

29 Objetivou-se, avaliar o efeito da adição de níveis crescentes de um produto formulado a base de  
30 algas marinhas (*Schizochytrium* sp), em dietas de poedeiras sobre o desempenho produtivo e  
31 parâmetros imunológicos. Foram utilizadas 192 poedeiras da linhagem Isa brown, com 30 semanas  
32 de idade, foram alojadas em aviário *dark house*, no Aviário Experimental do Instituto Federal Sul-  
33 rio-grandense (IFSul), no campus Pelotas- Visconde da Graça, Pelotas, RS, Brasil. As aves foram  
34 mantidas em gaiolas de postura, sendo três aves/gaiola, o que constituiu a unidade experimental,  
35 totalizando 64 unidades experimentais. Durante 126 dias experimentais, divididos em seis ciclos, de  
36 21 dias cada, as aves receberam quatro tratamentos dietéticos que consistiram em: T1 – controle  
37 (milho e farelo de soja), sem adição de *Schizochytrium* sp T2: T1 + *Schizochytrium* sp (0.5%); T3 –  
38 T1+ *Schizochytrium* sp (1.0%) e, T4 – T1+ *Schizochytrium* sp (2.0%), sendo 16  
39 repetições/tratamento em um delineamento inteiramente ao acaso. Os dados foram submetidos a  
40 análise de variância e regressão polinomial. Não houve efeito significativo dos tratamentos sobre as  
41 variáveis de desempenho avaliadas (peso vivo, consumo de ração, produção de ovos, conversão  
42 alimentar por dúzia e por massa de ovos), nem sobre os parâmetros imunológicos (série leucocitária  
43 total e diferencial e produção de anticorpos). De acordo com os resultados, a inclusão de um  
44 produto formulado a base de algas marinhas do gênero *Schizochytrium* sp em dietas de poedeiras  
45 não influenciou o desempenho zootécnico nem prejudicou o perfil imunológico das aves.

46 **Palavras-chave:** imunidade; DHA; ômega 3; produção;

47

48

49

50

51

52 **ABSTRACT**

53 This study aimed to evaluate the effect of increasing levels of All G Rich<sup>®</sup> Alltech Inc., an algae  
54 (*Schizochytrium* sp) based product in layer diets on quality and sensorial evaluation of eggs and  
55 fatty acid profile of yolk. A total of 192 30-week old Isa Brown layers were allocated in cages (3  
56 birds per cage) , in a total of 64 experimental units, 16 replicates per treatment in a completely  
57 randomized design. Experimental facilities were localized in a Dark-house poultry facility of the  
58 Instituto Federal Sul-rio-grandense (IFSul), no *campus* Visconde da Graça, Pelotas, RS, Brazil.  
59 During 126 experimental days, birds received 4 dietary treatments: T1 – control (corn-soybean  
60 meal); T2: T1 + *Schizochytrium* sp (0.5%); T3 –T1+ *Schizochytrium* sp (1.0%) e, T4 – T1+  
61 *Schizochytrium* sp (2.0%). Data were subjected to variance and polinomial regression analysis. No  
62 significant dietary treatment effect was observed on productive (body weighto, feed intake, egg  
63 production and feed conversion). Immunologic variables (total leukocytes and antibody production)  
64 were also not influenced by dietary treatments). These results indicate that the use of  
65 *Schizochytrium* sp has not influenced the productive performance and the imune response of  
66 layers.

67 **Key words:** immunity; DHA; omega 3; production; *Schizochytrium* sp

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

## INTRODUÇÃO

79

80 O método mais tradicional de enriquecimento de ovos com ácidos graxos poli-insaturados ômega -3  
81 (AGP's  $\omega$ -3) é a suplementação da dieta de poedeiras com linhaça ou óleo de peixe. No entanto,  
82 este último é limitado pela grande demanda por produtos marinhos e os riscos de sua contaminação  
83 por metais pesados (Wu et al., 2012). Assim, novas fontes de AGP's  $\omega$ -3 devem ser avaliadas para  
84 atender sua crescente demanda no mercado (Ryckebosch et al., 2014). Neste sentido, as microalgas  
85 marinhas têm gerado interesse entre os pesquisadores como uma fonte alternativa terapêutica e  
86 biológica de compostos como: vitaminas, proteínas (aminoácidos essenciais), polissacáridos,  
87 ácidos graxos mono-insaturados e poli-insaturados, ácidos nucleicos, minerais, e pigmentos  
88 fotossintéticos como carotenóides e clorofilas (Raja 2008 et al., Ratih e Se-Know, 2011; Sung-  
89 Myung et al., 2012). As microalgas combinam típicas propriedades de plantas superiores  
90 (fotossíntese aeróbica eficiente e simplicidade de requisitos nutricionais) com atributos  
91 biotecnológicos característicos de células microbianas (crescimento rápido em cultura líquida e  
92 capacidade para acumular ou secretar alguns metabólitos). Esta particular combinação apoia a  
93 utilização desses microrganismos para processos aplicados e representa a base da biotecnologia de  
94 microalgas (Kim e Wijesekara, 2010). De acordo com Park et al. (2015), embora as microalgas  
95 apresentem um elevado potencial para o uso como aditivo na alimentação animal, pesquisas sobre o  
96 efeito que possam exercer sobre o desempenho em poedeiras são consideradas insuficientes e,  
97 embora estudos avaliando o enriquecimento de ovos com AGP's  $\omega$ -3, através do uso de algas  
98 marinhas na dieta das aves tenham obtido bons resultados (Fredriksson et al., 2006; Bruneel et al.,  
99 2013; Ao et al.; 2015; Park et al., 2015), este incremento na qualidade dos ovos deve manter-se em  
100 paralelo à manutenção da saúde e desempenho zootécnico das aves.

101 Diante do exposto, objetivou-se, avaliar os efeitos da suplementação de diferentes níveis de um  
102 produto<sup>7</sup> formulado a base de microalgas *Schizochytrium* sp na dieta de poedeiras comerciais sobre  
103 o desempenho produtivo e parâmetros imunológicos.

---

<sup>7</sup> Produto denominado comercialmente como *ALL G Rich*<sup>®</sup>, produzido e fornecido pela Alltech Inc.

## MATERIAIS E MÉTODOS

104

105 A metodologia e execução deste experimento foram aprovados pela Comissão de Ética em  
106 Experimentação Animal (CEEAA), da Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil, sob o número de  
107 cadastro 7538.

108 O experimento foi conduzido no aviário experimental do Instituto Federal Sul-rio-grandense, nas  
109 dependências do campus Pelotas - Visconde da Graça, em um total de 126 dias experimentais,  
110 divididos em seis ciclos, de 21 dias cada.

111 Foram utilizadas 192 poedeiras, da linhagem Isa *brown*, com idade inicial de 30 semanas, alojadas  
112 em galpão tipo *dark house*, em gaiolas de postura, contendo três aves cada, totalizando 64 gaiolas.  
113 Cada gaiola representou uma unidade experimental. O delineamento experimental utilizado foi o  
114 inteiramente ao acaso, com quatro tratamentos e 16 repetições/tratamento.

115 As aves foram alimentadas à vontade, utilizando-se comedouros do tipo calha aberta, dispostos na  
116 frente das gaiolas, e isolados por divisórias para que a ração fosse fornecida para cada unidade  
117 experimental, separadamente, respeitando os tratamentos. A água foi fornecida por bebedouros tipo  
118 *nipple*, à vontade, e cada gaiola continha dois bebedouros. O regime de luz seguiu as  
119 recomendações indicadas pelo manual da linhagem (Isa Brown, 2006) com dezesseis horas e trinta  
120 minutos de luz diária. Os dejetos das aves mantidas no galpão foram recolhidos à medida que se  
121 liquefaziam através de drenos para um fosso localizado no lado externo da instalação. A ração basal  
122 foi composta de milho e farelo de soja, respeitando a cada um dos tratamentos propostos, conforme  
123 Rostagno (2011), adaptados para os níveis nutricionais estabelecidos pelo manual da linhagem.  
124 Uma fonte comercial a base de microalgas (*Schizochytrium* sp), produzida de forma heterotrófica,  
125 contendo em sua composição 27,25% de DHA, 64% de gordura, 11% de proteína bruta, 0,34% de  
126 cálcio e 0,47% de fósforo, foi suplementada às dietas, em diferentes níveis de inclusão, como fonte  
127 de AGP's ômega-3. Os grupos foram divididos em quatro tratamentos, os quais eram compostos  
128 por: dieta controle (sem adição de microalgas) e três dietas com diferentes níveis de inclusão do  
129 produto, totalizando quatro dietas experimentais, sendo: T1: controle; T2: T1+ 0,5% de

130 *Schizochytrium* sp; T3: T1+ 1,0% de *Schizochytrium* sp e, T4: T1+2,0% de *Schizochytrium* sp. As  
131 dietas experimentais foram formuladas isocalóricas (2,85 Mcal/kg de energia metabolizável) e  
132 isoproteicas, (16,5 % de proteína bruta), conforme pode ser observado na Tabela 1.

133 As variáveis de desempenho produtivo analisadas foram peso vivo (PV, g), consumo de ração (CR,  
134 g), percentual de ovos produzidos (PDOV, %), conversão alimentar por dúzia (CA/Dz, kg/dz) e  
135 conversão alimentar por massa (CA/M, kg/kg). Estas variáveis foram analisadas dentro de cada  
136 período de 21 dias, sendo que as variáveis CR e PDOV tiveram controle diário.

137 Para a realização da coleta de dados referentes às análises imunológicas, as aves foram identificadas  
138 através de anilhas numeradas e, no 21º dia experimental foram vacinadas contra a doença de  
139 Newcastle e, 21 dias após a vacinação, procedeu-se a coleta do sangue de oito aves/tratamento.

140 Novas coletas de sangue foram realizadas no 42º e 63º dias após a vacinação, para a realização das  
141 análises de imunidade e contagem leucocitária total e diferencial. As coletas de sangue foram  
142 realizadas no período da manhã, através de venopunção da veia ulnar. Foram coletados, 3 mL de  
143 sangue, distribuídos na seguinte proporção: 1 ml em tubos BD vacutainer® (tubos com vácuo e 7,2  
144 mg de etilenodiaminotetracético) EDTA) para proceder-se imediatamente as análises leucocitárias  
145 e, 2mL em tubos BD vacutainer®, sem anticoagulante, procedendo à centrifugação a 2500 rpm  
146 durante 10 minutos, para obtenção do soro, o qual foi congelado em tubos plásticos previamente  
147 identificados, para posterior pesquisa de anticorpos, no Laboratório de Virologia da Faculdade de  
148 Medicina Veterinária/Universidade Federal de Pelotas, através de kit ELISA específico, seguindo as  
149 recomendações do fabricante (*BioChek*® – *BioChek Poultry Immunoassays – Newcastle Disease*  
150 *Antibody Test Kit*, Lote N° FS5994). Na contagem total de leucócitos, utilizou-se a seguinte técnica:  
151 com o auxílio de uma pipeta de Thoma aspirou-se 0,5 mL de sangue, fez-se a higienização da pipeta  
152 e aspirou-se 0,6 mL da solução de Natt & Harrick (1952), agitando-se manualmente por cinco  
153 segundos. As primeiras gotas foram desprezadas e foi feito o preenchimento da câmara de  
154 Neubauer. A diluição foi de 1:200, realizando-se a contagem em câmara de Neubauer, sendo  
155 contadas as células em nove quadrados pequenos centrais e o resultado multiplicado por 120. Para a

156 contagem diferencial leucocitária, preparou-se um esfregaço sanguíneo em lâminas de vidro, fixado  
157 com álcool metílico (metanol) durante cinco minutos e posteriormente corado com hematoxilina-  
158 eosina (panótico rápido Laborclin<sup>®</sup>). As lâminas foram lavadas com água destilada, secas ao ar livre  
159 e os esfregaços foram observados ao microscópio ótico, contabilizando 100 leucócitos. Para  
160 contagem leucocitária foram diferenciados os leucócitos granulares (heterófilos, eosinófilos e  
161 basófilos) dos não granulares (linfócitos e monócitos), contando-os individualmente.

162 Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, à análise de regressão  
163 polinomial para determinação de efeito linear ou quadrático dos níveis do produto nas dietas,  
164 através do *software* SAS, 2002. Diferenças significativas foram consideradas se  $P < 0,05$ .

165

166

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

167 Não houve efeito estatístico significativo ( $P > 0.05$ ) entre os tratamentos, para as variáveis de  
168 desempenho produtivo analisadas (Tabela 2). No entanto, Park et al, (2015), notaram variação  
169 significativa na produção de ovos de aves alimentadas com 0,5% e 1,0% de um produto a base de  
170 algas (*Schizochytrium*) em relação ao tratamento controle. No presente estudo, apesar de não haver  
171 aumento significativo, a produção de ovos das aves alimentadas com 1% de inclusão do produto  
172 (T3) é numericamente superior (90,01%) quando comparada à produção de ovos dos demais  
173 tratamentos, a este tratamento também é atribuído o maior consumo de ração (110,09g), entretanto,  
174 coincide, também, com a melhor conversão alimentar (1,44). Segundo aqueles mesmos autores,  
175 pesquisas sobre as respostas de desempenho de poedeiras suplementadas com microalgas são  
176 inconsistentes devido a um número ainda restrito de estudos e estes abordando diferentes linhagens,  
177 gêneros e espécies de microalgas. Cheng et al, (2004) relatam não ter encontrado diferenças na  
178 produtividade de poedeiras alimentadas com DHA oriundo de algas marinhas, neste sentido,  
179 Lemahieu et al, (2013) observaram que a produção de ovos não foi significativamente afetada pela  
180 suplementação de microalgas (*Phaeodactylum tricornutum*, *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis*  
181 *galbana*, ou *Chlorella fusca*) na dieta de poedeiras.

182 Janczyk et al ., 2009, observaram que poedeiras alimentadas com microalgas (*Chlorella vulgaris*)  
183 apresentaram alteração benéfica na microbiota intestinal. As microalgas têm sido cultivadas por sua  
184 capacidade em sintetizar compostos considerados nutracêuticos, como ácidos orgânicos,  
185 carboidratos, aminoácidos e peptídeos, vitaminas, antibióticos e enzimas (Chu, 2012). Portanto,  
186 esses fatores nutricionais aliados a mudanças na comunidade microbiana intestinal podem estar  
187 envolvidos em processos metabólicos relacionados à produção de ovos, entretanto, segundo Park et  
188 al (2015), atualmente existem pouquíssimas informações a respeito do uso de microalgas do gênero  
189 *Schizochytrium* para poedeiras.

190  
191 Com relação às variáveis imunológicas não foram observadas diferenças significativas entre os  
192 tratamentos (Tabela 3).

193 De acordo com De Pablo et al, (2002), AGP's  $\omega$  -3 ofertados pela dieta são incorporados em  
194 lípidos celulares onde exercem efeitos essenciais em muitos sistemas biológicos, tais como as  
195 reações imunitária, agregação de plaquetas do sangue e de regulação do crescimento de alguns tipos  
196 de células.

197 Os valores de linfócitos estão relativamente abaixo, do que os considerados normais (7000 a  
198 17500/mm<sup>3</sup> para *Gallus gallus domesticus*) por Jain, (1993) e Bounous e Stedman (2000). A  
199 linfopenia, pode ocorrer em infecções sistêmicas agudas ou estresse severo (Schmidt et al, 2007),  
200 situação que, segundo Macari e Luquetti (2002) está relacionada a liberação de hormônio  
201 corticotrófico (ACTH) em situações de estresse. Segundo Gross e Siegel, (1983), as relações  
202 Heterófilo/Linfócito (H/L) 0,2, 0,5 e 0,8 indicam, respectivamente, baixo, ideal e elevado grau de  
203 estresse nas aves e, de acordo com Macari e Luquetti (2002), quando frangos são submetidos a  
204 condições de estresse essa relação aumenta, pois a quantidade de heterofilos aumenta na circulação,  
205 ou em situações que desencadeiem a linfopenia. Já, em estudo realizado por Yan e Kim, (2013), os  
206 pesquisadores observaram o aumento na concentração de linfócitos no sangue de frangos  
207 alimentados com 0,1% e 0,2% de um produto a base de *Schizochytrium* sp. No presente estudo,

208 embora sem variação significativa, pode-se observar que a relação heterófilo/linfócito (H/L) ficou  
209 acima de 0,5 em todos os tratamentos, indicando, por este parâmetro, que a inclusão de ALL G  
210 Rich<sup>®</sup> não interferiu na condição de estresse das aves. Kang et al, (2013) testaram a inclusão de três  
211 formas da microalga *Chlorella* (em pó, como promotora de crescimento e líquida), contra um  
212 tratamento controle contendo 1% de virginiamicina como promotor de crescimento, sobre as  
213 características imunes de frangos de corte. O número de células brancas do sangue foi  
214 significativamente maior ( $P < 0,05$ ) em frangos alimentados com a alga incluída de forma líquida,  
215 em comparação com a forma seca, e o número de linfócitos também foi significativamente mais  
216 elevado ( $P < 0,05$ ) em comparação com todos os outros tratamentos, o que os autores atribuem,  
217 possivelmente à técnica de processamento. No entanto, nenhum tratamento obteve efeito sobre as  
218 outras células leucocitárias (heterofilos, eosinófilos, basófilos e monócitos). Da mesma forma,  
219 Kotrbacek et al, (1994) observaram que em frangos alimentados com uma dieta com 0,5%  
220 *Chlorella* aumentou significativamente a atividade fagocítica de leucócitos e desenvolvimento do  
221 tecido linfático.

222 O número de leucócitos observados no presente estudo manteve-se dentro de valores referenciados  
223 por Bounous e Stedman, (2000), (12.000 a 30.000 leucócitos/ $\mu$ L) como normais, situando-se em  
224 torno de 17.000 leucócitos/ $\mu$ L a 18.000 leucócitos/ $\mu$ L entre os tratamentos. Os valores sanguíneos  
225 podem ser influenciados pelo estado nutricional, sexo, idade, *habitat*, estação do ano, estado  
226 reprodutivo, trauma, criação e estresse ambiental (Campbell, 2004; Thrall, 2004). Ainda em relação  
227 aos nutrientes da dieta, Klasing, (1998) relata que as vitaminas A, D e E e os ácidos graxos têm uma  
228 regulação direta sobre os leucócitos. Deste modo, segundo Sturkie e Griminger, (1986), a  
229 determinação do número de leucócitos no sangue aviário foi realizada por diversos pesquisadores,  
230 entretanto, a interpretação do leucograma aviário é uma tarefa difícil tendo em vista a grande  
231 variação ocasionada pelos fatores mencionados.

232



233 Na Tabela 4 estão descritos os dados encontrados para a produção de anticorpos em aves vacinadas  
234 contra a doença de Newcastle e alimentadas com diferentes níveis de ALL G Rich<sup>®</sup>.  
235 Sabe-se que o balanço entre ácidos graxos poli-insaturados ômega 6 (AGP's  $\omega$ -6) e AGP's  $\omega$ -3 na  
236 dieta pode mudar a composição da membrana e alterar a sinalização intracelular e a expressão  
237 gênica, o que afeta a produção de anticorpos (Klasing, 1998), entretanto, no presente estudo não  
238 houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos, sendo que, todas as amostras  
239 obtiveram *status* positivo para anticorpos, o que provavelmente pode ser atribuído ao fato de que,  
240 quando as amostras sanguíneas foram coletadas para a obtenção do soro, todas as aves do *plantel* já  
241 haviam sido vacinadas contra a doença de Newcastle na fase pré-postura, portanto, células de  
242 memória, contra este antígeno em específico, já haviam desenvolvidas como mecanismo de defesa  
243 humoral por todo o *plantel*.  
244 Também não foram observadas diferenças entre as médias dos tratamentos, podendo-se inferir que  
245 os níveis de *Schizochytrium* sp não influenciaram os títulos de anticorpos produzidos pelas aves.  
246 Entretanto, Macalintal et al. (2014) ao suplementarem dietas de frangos de corte com o mesmo  
247 produto e as mesma doses utilizadas no presente trabalho, avaliaram a resposta imunológica dos  
248 animais após serem desafiados com SRBC (*sheep red blood cells*) aos sete e 21 dias e observaram  
249 aumento na produção de anticorpos aos sete e 21 dias após a primeira inoculação, bem como,  
250 aumento nos títulos de IgM (14 dias após a 1<sup>a</sup> inoculação) e IgG (sete dias após a 1<sup>a</sup> inoculação),  
251 nas aves que foram alimentadas com *Schizochytrium* sp, contudo, deve-se considerar que as aves  
252 não apresentavam células de memória para o respectivo antígeno por tratar-se da primeira  
253 exposição ao mesmo. No metabolismo lipídico, o ácido graxo linoleico é convertido em ácido  
254 araquidônico e ambos pertencem ao grupo de AGP's  $\omega$ -6. Da síntese do ácido araquidônico  
255 resultam eicosanoides (Murakami et al., 2008) nos tecidos, sendo responsáveis pela formação das  
256 prostaglandinas da série 2 (PGE2), tromboxano A (TXA) e leucotrienos da série 4 (LT4),  
257 mediadores bioquímicos envolvidos em processos de inflamação, infecção, lesão tecidual,  
258 modulação do sistema imune e agregação plaquetária (Hirayama et al., 2006). O ácido  $\alpha$ -linolênico

259 tem como principais fontes os fitoplânctons, as algas e os óleos de peixes, mas também podem ser  
260 encontrados nos óleos vegetais de linhaça e canola (Youdim et al., 2000), os quais produzem  
261 metabólitos com potencial de inflamação muito menor.

262 Em dietas ricas em AGP's  $\omega$ -3, estes são incorporados às membranas celulares substituindo o ácido  
263 araquidônico, e a consequência dessa substituição é a menor produção de eicosanoides mediadores,  
264 como a PGE2 e o LTB4. A aplicação de uma ampla gama de extratos de plantas, especialmente as  
265 marinhas e outros recursos naturais, tem sido empregada para melhorar a saúde e desempenho do  
266 animal devido ao seu efeito anti-inflamatório, imunomodulatório (Teas et al., 1989) , antioxidantes  
267 e atividade antibacteriana (Rhodes, 1996). Dentre a bibliografia encontram-se relatos de que os  
268 níveis de AGP's  $\omega$ -3 aumentaram (Fritsche et al., 1992; Leshchinsky e Klasing, 2001) ou  
269 diminuíram (Parmentier et al., 1997), a resposta em relação aos anticorpos produzidos pelas aves.  
270 Do mesmo modo, há relatos de que dietas ricas em AGP's  $\omega$ -6 aumentam (Sijben et al., 2001; Pinto  
271 et al., 2014) ou diminuem (Friedman e Sklan, 1995) os anticorpos produzidos. Esta aparente  
272 discrepância pode estar relacionada a diferentes antígenos e diferentes concentrações na dieta de  
273 AGP's  $\omega$ -3 e AGP's  $\omega$ -6 (Khatibjoo et al., 2011), ao uso de diferentes espécies, ou, ainda, de  
274 diferentes linhagens dentro de uma mesma espécie (Sijben et al., 2001).

275 Yoshizawa et al, (1993), relataram que o extrato de algas ativa os macrófagos e diminui a produção  
276 de citocina pró-inflamatória em animais de laboratório. Em uma abordagem utilizando ferramentas  
277 biotecnológicas, Robertson et al, (2015), observaram que na expressão de 92 genes ligados à via de  
278 sinalização de inflamação, quando expostos a extratos de lipídios extraídos de algas *P. lutheri*, *P.*  
279 *palmata*, *P. dioica* *C. crispus*, 14 apresentaram “down regulation”, sugerindo que os extratos  
280 lipídicos de algas podem apresentar potencial como anti-inflamatórios contra doenças inflamatórias  
281 crônicas em humanos. Świątkiewicz et al, (2015), relatam que a maioria dos experimentos  
282 demonstraram que microalgas podem ser usadas, com sucesso, na alimentação de aves. Elas podem  
283 ter efeitos benéficos principalmente na carne e qualidade dos ovos, ou seja, no aumento da  
284 concentração de AGP's  $\omega$ -3 e carotenóides nestes produtos, entretanto, no que diz respeito a

285 indicadores de desempenho e, principalmente a função imune a maioria das pesquisas está  
286 relacionada aos gêneros *Spirulina* (Quereshi et al., 1999; Al-Battshan et al., 2001; Raju et al.; 2005;  
287 Mariey et al., 2014;) e *Chlorella* (Kotrbaček e al., 1994; Rezvani et al., 2012; Kang et al., 2013). A  
288 respeito ao gênero *Schizochytrium*, encontram-se bem referenciados os efeitos relacionando a  
289 inclusão de microalgas deste gênero na alimentação de peixes (Harel et al., 2002; Patnaik, et al.;  
290 2006; Miller et al.; 2007; Ganuza et al.; 2008) e em aves, principalmente poedeiras e seus impactos  
291 positivos no perfil lipídico dos ovos, com o aumento da concentração de AGP's  $\omega$ -3 (Rymer et al.,  
292 2010; Sefer et al.; 2011; Ao et al; 2015; Park et al, 2015).

293 Deste modo, ainda existe uma ampla interface a ser explorada no que diz respeito ao uso de  
294 microalgas, especialmente o gênero *Schizochytrium* sobre o sistema imune das aves, principalmente  
295 poedeiras, incluindo o uso de ferramentas nutrigenômicas, as quais possibilitem predizer a possível  
296 influência do uso de microalgas marinhas e seus componentes nos genes envolvidos na ativação do  
297 sistema imune.

298

299

### Conclusão

300 Nas condições em que o experimento foi realizado, a inclusão de diferentes níveis de  
301 *Schizochytrium* sp não prejudicou os parâmetros de desempenho produtivo e imunológico das aves.

302 Sugere-se que estudos mais aprofundados sejam realizados quanto ao impacto do uso de algas do  
303 gênero *Schizochytrium* na imunidade de poedeiras.

304

305

### Referências

306 Al-Batshan, H.A.; AL-Mufarrej, S.I.; AL-Homaidan, A.A.; Qureshi, M.A.2001. Enhancement of  
307 chicken macrophage phagocytic function and nitrite production by dietary *Spirulina platensis*.  
308 Immunopharmacol Immunotoxicol, 23:281-9.

309

310 Ao,T.; Macalintal, L. M.; Paul, M. A.; Pescatore, A. J.; Cantor, A. H.; Ford, M. J.;Timmons, B.;  
311 Dawson, K. A. 2015. Effects of supplementing microalgae in laying hen diets on productive  
312 performance, fatty-acid profile, and oxidative stability of eggs. J Appl. Poult. Res. 24 (3): 394-  
313 400.

314

315 Bounous, D.I. and N.L. Stedman, 2000. Normal avian hematology: chicken and turkey. In:  
316 Feldman, B.F.; Zinkl, J.G. and N.C. Jain. Schalm's Veterinary Hematology, 5 Ed. Lippincott,  
317 Williams and th Wilkisin, Philadelphia, pp: 1147-1154.  
318

319 Bruneel, C., Lemahieu, C., Fraeye, I., Ryckebosch, E., Buyse, J., Muylaert, K., Foubert, I.  
320 2013. Impact of microalgal feed supplementation on omega-3 fatty acid enrichment of hen  
321 eggs. *J. Funct. Foods*, 5: 897-904  
322

323 Campbell, T.W. Clinical Chemistry of Birds. 2004. Pages 479-492. In: Thrall, M.A. Veterinary  
324 Hematology and Clinical Chemistry. Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins.  
325

326 Cheng, C. H.; Shen, T. F.; Chen, W. L.; Ding, T.2004. Effects of dietary algal docosaehaenoic acid  
327 oil supplementation on fatty acid deposition and gene expression in laying Leghorn hens *The J.*  
328 *Agr. Sci.*,14: 683-690.  
329

330 Chu W-L. 2012. Biotechnological applications of microalgae. *IeJSME*. v. 6 (Suppl 1). p. S24-S37.  
331

332 De Pablo MA, Puertollano MA and de Alvarez de Cienfuegos G 2002. Biological and clinical  
333 significance of lipids as modulators of immune system functions. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9:  
334 945–950.  
335

336 Fredriksson, S., Elwinger, K., & Pickova, J. (2006). Fatty acid and carotenoid composition of egg  
337 yolk as an effect of microalgae addition to feed formula for laying hens. *Food Chem.* 99, 530-  
338 537.  
339

340 Friedman, A., and D. Sklan. 1995. Effect of dietary fatty acids on antibody production and fatty  
341 acid composition of lymphoid organs in broiler chicks. *Poult. Sci.* 74:1463–1469.  
342

343 Fritsche, K. L., and N. A. Cassity. 1992. Dietary n-3 fatty acids reduce antibody-dependent cell  
344 cytotoxicity and alter eicosanoid release by chicken immune cells. *Poult. Sci.* 71:1646–1657.  
345

346 Ganuza, E.; Anderson, A.J., Ratledge, C. 2008. High-cell-density cultivation of *Schizochytrium* in  
347 ammonium–pH-auxostat fed-batch system. *Biotechnol. Lett.* 30(9):1559-64.  
348

349 Gross, W. B.; Siegel, H. S. 1983. Evaluation of the heterophil to lymphocyte ratio as a measure of  
350 stress in chickens. *Avian Dis*, 27:972–979.  
351

352 Harel M., Koven W.; Lein I., Bar Y., Behrens P., Stubblefield J., Zohar Y., Place A.R. 2002.  
353 Advanced DHA, EPA and ArA enrichment materials for marine aquaculture using single cell  
354 heterotrophs. *Aquac.*, 213:347-362.  
355

356 Hirayama K.B., Speridião P.G.L. & Neto U.F. 2006. Ácidos graxos poli-insaturados de cadeia  
357 longa. *Electronic Journal of Pediatric, Gastroenterology, Nutrition and Liver Diseases* 10(3).  
358 Disponível em <http://www.e-gastroped.com.br/sep06/acidosgraxos.htm> Acesso Jan. 2016  
359

360 Isa Brown.2006. Manual da Linhagem. Guia de manejo de ponedoras Isa Brown, 24p.  
361

- 362 Jain, N. C. Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Philadelphia, USA: Lea & Febiger; 1986. pp.  
363 20–80.  
364
- 365 Janczyk, P., B. Halle, and B. Souffrant. 2009. Microbial community composition of the crop and  
366 ceca contents of laying hens fed diets supplemented with *Chlorella vulgaris*. Poul. Sci. 88:2324-  
367 2332.  
368
- 369 Kang, H.K.; Salim, H.M.; Akter, N.; Kim, D.W.; Kim, J.H.; Bang, H.T.; Kim, M. J.; Na, C.J.;  
370 Wangbo, J. H.; ChoI, H.C.; Suh, O. S. 2013. Effect of various forms of dietary Chlorella  
371 supplementation on growth performance, immune characteristics, and intestinal microflora  
372 population of broiler chickens. J Appl Poultry Res. 22 :100–108  
373
- 374 Khatibjoo, A.; Kermanshahi,H.; Golian, A.; Zaghari, M. 2011. The effect of dietary n-6:n-3 ratio  
375 and sex on broiler breeder immunity. Poul. Sci. 90 :2209–2216.  
376
- 377 Kim, S. K.; and Wijesekara, I. 2010. Development and biological activities of marine-derived  
378 bioactive peptides: A review. Journal of Functional foods, 2: p. 1–9.  
379
- 380 Klasing, K. C. Nutritional Modulation of Resistance to Infectious Diseases. 1998. Poul. Sci.  
381 77:1119–1125.  
382
- 383 Kotrbacek V, Halouzka R, Jurajda V, Knotkova´ Z, Filka J. 1994. Increased immune response in  
384 broilers after administration of natural food supplements. Vet Med. 39:321 – 328.  
385
- 386 Lemahieu, C., C. Bruneel, R. Termote-Verhalle, K. Muylaert, J. Buyse, and I. Foubert. 2013.  
387 Impact of feed supplementation with different omega-3 rich microalgae species on enrichment of  
388 eggs of laying hens. Food Chem. 14:4051-4059.  
389
- 390 Leshchinsky, T. V., and K. C. Klasing. 2001. Relationship between the level of dietary vitamin E  
391 and the immune response of broiler chickens. Poul. Sci. 80:1590–1599.  
392
- 393 Macalintal, L. M., Ao, T., Pescatore, J. A., Cantos, A. H., Timmons, B., Conn., Ford, M. J., C.,  
394 Dawson, K. A. 2014. Effects of dietary supplementation with Alltech SP-1 microalgae on growth  
395 performance, immunity and tissue fatty acid profile of broiler chicks. Disponível em:  
396 <http://www.poultryscience.org/psa13/abstracts/119.pdf> Acesso em Jan./2016  
397
- 398 Macari, M. e Luquetti, B.C. 2002. Fisiologia cardiovascular. Páginas 17-36. In: Fisiologia aviária:  
399 aplicada a frangos de corte. Cap. 2. Editora FUNEP. Jaboticabal/SP.  
400
- 401 Mariey, Y.A., Samak, H.R., Abou-Khashba, H.A., Sayed, M.A.M. and Abou- Zeid, A.E. 2014  
402 Effect of using Spirulina platensis algae as a feed additives for poultry diets. Egypt Poul. Sci.  
403 Jour. 34: 245-258.  
404
- 405 Miller, M.R., Nichols, P.D., and Carter, C.G. 2007. Replacement of dietary fish oil for Atlantic  
406 salmon parr (*Salmo salar* L.) with a stearidonic acid containing oil has no effect on omega-3  
407 longchain polyunsaturated fatty acid concentrations. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol.  
408 Biol. 146(2): 197–206.

409  
410 Murakami K.T.T., Pinto M.F.; Lima V.M.F. 2008. Omega-3 fatty acids and broilers immunology.  
411 Veterinária e Zootecnia. 15:112.  
412  
413 Natt M.P., Herrick C.A. 1952. A new blood diluent for counting erythrocytes and leucocytes of the  
414 chicken. Poult. Sci., 31, 735–738.  
415  
416 Park, J. H.; Upadhaya, S. D.; Kim, L. H. 2015. Effect of Dietary Marine Microalgae  
417 (*Schizochytrium*) Powder on Egg Production, Blood Lipid Profiles, Egg Quality, and Fatty Acid  
418 Composition of Egg Yolk in Layers Asian Australas. J. Anim. Sci. 28: 391-397.  
419  
420 Parmentier, H. K., M. G. Nieuwland, M. W. Barwegen, R. P. Kwakkel, and J. W. Schrama. 1997.  
421 Dietary unsaturated fatty acids affect antibody responses and growth of chickens divergently  
422 selected for humoral responses to sheep red blood cells. Poult. Sci. 76:1164–1171.  
423  
424 Patnaik, S., Samocha, T.M., Davis, D.A., Bullis, R.A., Browdy, C.L. 2006. The use of algal meals as  
425 highly unsaturated fatty acid sources in practical diets designed for *Litopenaeus vannamei*.  
426 Aquac. Nutr. 12, 395–401.  
427  
428 Pinto, M. F.; Lima, V.M.F.; Ribeiro, S.C.; Bossolani, I. S. P.; Ponsano, E. H. G.; Garcia-Neto, G.  
429 2014. Fontes de óleo na dieta e sua influência no desempenho e na imunidade de frangos de  
430 corte Pesq. Vet. Bras. 34(5):409-414.  
431  
432 Quereshi, M.A., Garlich, J.D. and Kidd, M.T. 1999. Dietary *Spirulina platensis* enhances humoral  
433 and cell-mediated immune functions in chickens. Immunopharmacol and Immunotoxicol. 18:  
434 465-476.  
  
435 Raja, R., Hemaiswarya, S., Kumar, N. A., Sridhar, S., & Rengasamy, R. 2008. A perspective on the  
436 biotechnological potential of microalgae. Cr Revi in Microb., 34, 77–88.  
437  
438 Raju, M.V.L.N., Rao, S.V., Radhika, K., and Chawak, M.M. 2005. Dietary supplementation of  
439 *Spirulina* and its effects on broiler chicken exposed to aflatoxicosis. Indian J. of Poult Sci. 40  
440 :36-40.  
441  
442 Ratih, P., & Se-Kwon, K. 2011. Biological activities and health benefit effects of natural pigments  
443 derived from marine algae. J Funct Foods, 3, 255–266.  
444  
445 Rezvani, M., Zaghari, M. and Moravej, H. 2012 A survey on *Chlorella vulgaris* effect's on  
446 performance and cellular immunity in broilers. IJASR 3: 9-15  
447  
448 Robertson, C. R.; Guihéneuf, F.; Bahar, B.; Schmid, M. B.; Stengel, D. B.; Fitzgerald, G.F.; Ross,  
449 P. R.; Stanton, C. 2015. The Anti-Inflammatory Effect of Algae-Derived Lipid Extracts on  
450 Lipopolysaccharide (LPS)-Stimulated Human THP-1 Macrophages. Mar Drugs. 13: 5402-5424.  
451  
452 Rhodes M. J. 1996. Physiologically-active compounds in plant foods: An overview. Proc. Nutr.  
453 Soc. 55:371–384.  
454

455 Rostagno, H. S.; Albino, L. F. T.; Donzele, J. L. et al., 2011. Tabelas Brasileiras para Aves e  
456 Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 3.ed. VIÇOSA: UFV,  
457 Departamento de Zootecnia, 252p.  
458

459 Ryckebosch<sup>4</sup> E.; Bruneel, C.; Termote-Verhalle, R.; Goiris, K.; Muylaert, K.; Fourbet, I. 2014.  
460 Nutritional evaluation of microalgae oils rich in omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids  
461 as an alternative for fish oil. *Food Chem.* 160: 393–400.  
462

463 Rymer, C.; Gibbs, R.A.; Givens, D. I. 2010. Comparison of algal and fish sources on the oxidative  
464 stability of poultry meat and its enrichment with omega-3 polyunsaturated fatty acids *Poult.*  
465 *Sci.* 89 (1):150-159.  
466

467 SAS. 2002. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.0. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.  
468

469 Schmidt, E. M. S.; Locatelli-Dittrich, R.; Santin, E.; Paulillo, A.C. 2007. Patologia clínica em aves  
470 de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – Revisão. *Archives of Vet*  
471 *Sci*, 12: 9-20.  
472

473 Šefer, D.; Andonov, A.; Šobajić.; Marković, R.; Radulović, S.; Jakić-Dimić, D.; Petrujkić, B. 2011.  
474 Effects of feeding laying hens diets supplemented with omega 3 fatty acids on the egg fatty acid  
475 profile *Biotech Anim Husbandry* 27: 679-686.  
476

477 Sijben, J. W., M. G. Nieuwland, B. Kemp, H. K. Parmentier, and J. W. Schrama. 2001. Interactions  
478 and antigen dependence of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on antibody  
479 responsiveness in growing layer hens. *Poult. Sci.* 80:885–893.  
480

481 Sturkie, P.D.; Griminger, P. Body fluids: blood. 1986, pages 102-129. In: Sturkie, P.D. *Avian*  
482 *Physiology*. New York: Springer-Verlag,

483 Sung-Myung, K., Areum-Daseul, K., Soo-Jin, H., Kil-Nam, K., Seung-Hong, L., Seok-Chun, K., &  
484 You-Jin, J. 2012. Induction of apoptosis by diphlorethohydroxycarmalol isolated from brown  
485 alga, *Ishige okamurae*. *J Funct Foods*, 4: 433–439.  
486

487 Świątkiewicz, A.; Arczewska-Włosek.;A.;Józefiak.; D. Application of microalgae biomass in  
488 poultry nutrition. 2015. *World Poultry Sci J* 71 (04).  
489

490 Teas J., Harbison M. L., Gelman R. S. 1984. Dietary seaweed (*Laminaria*) and mammary  
491 carcinogenesis in rats. *Cancer Res.* 44:2758–2761.  
492

493 Thrall, M.A. 2004. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Philadelphia, Lippincott,  
494 Williams & Wilkins. 518p.  
495

496 Wu, X., Ouyang, H., Duan, B., Pang , D., Zhang, L., Yuan, T., Xue, L., Ni, D., Cheng, L., Dong,  
497 S., Wei, Z., Li, L., Yu, M., Sun, Q.Y., Chen, D.Y., Lai, L., Dai, Y. and Li, G.P. 2012.  
498 Production of cloned transgenic cow expressing omega-3 fatty acids. *Transgenic Research*  
499 537-543  
500

501 Yan, L. and Kim, I.H. 2013. Effects of dietary  $\omega$ -3 fatty acid-enriched microalgae supplementation  
502 on growth performance, blood profiles, meat quality, and fatty acid composition of meat in  
503 broilers. *J Appl Anim Res* 41: 392-397.

504

505 Yoshizawa Y., Enomoto A., Todoh H., Amentani A., Kaminogawa S. 1993. Activation of murine  
506 macrophages by polysaccharide fractions from marine algae (*Porphyra yezoensis*). *Biosci.*  
507 *Biotechnol. Biochem.* 57:1862–1866

508

509 Youdim M.B., Gassen M., Gross A., Mandel S. e Grünblatt E. 2000. Iron chelating, antioxidant and  
510 cytoprotective properties of dopamine receptor agonist; apomorphine. *J. Neural Transm.*  
511 58(Suppl.):83-96.

512

513 .

514

515

516

517

518

519

520

521

522

523

524

525

526

527

528

529

530

531

532



Tabela 1 Composição e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais

Ingredientes (%)	T1	T2	T3	T4
Milho	63,25	63,76	62,81	60,90
Farelo de soja	24,20	24,12	24,28	24,61
Óleo soja	0,50	0,00	0,00	0,00
Calcáreo calcítico	6,03	5,60	5,88	6,26
Fosfato bicálcico	1,39	1,39	1,40	1,60
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50
DL Metionina	0,13	0,13	0,13	0,13
Núcleo Postura <sup>1</sup>	4,00	4,00	4,00	4,00
<i>Schizochytrium</i> sp	0,00	0,50	1,00	2,00
$\Sigma$	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2750,00	2750,00	2750,00	2750,00
Proteína Bruta (%)	16,30	16,30	16,30	16,30
Cálcio (%)	3,86	3,70	3,81	4,00
Fósforo (%)	0,81	0,81	0,81	0,85
Fósforo disponível (%)	0,39	0,39	0,39	0,42
Sódio (%)	0,32	0,32	0,32	0,32
Cloro (%)	0,33	0,33	0,33	0,33
Metionina total (%)	0,46	0,46	0,46	0,46
Lisina total (%)	0,83	0,83	0,84	0,84

<sup>1</sup> Composição (garantida por kg): vitamina A: 184000 UI; vitamina D3: 46000 UI; vitamina E 345 mg; vitamina K: 46 mg; vitamina B12: 180 mg; tiamina: 23 mg; riboflavina: 92 mg; piridoxina: 69 mg; biotina: 1,44 mg; niacina 23 mg; ácido fólico: 12 mg; colina: 900 mg; metionina: 1,80%; cálcio: 30%; fósforo:4,85%; sódio: 2,40%; manganês: 2940 mg; ferro: 1260 mg; zinco: 2100 mg; cobre: 250 mg; cobalto: 8,40 mg; selênio: 14,70 mg.

540  
541

Tabela 2 Média das variáveis de desempenho produtivo de aves alimentadas com diferentes níveis de *Scchizochytrium* sp

Tratamentos	PV, g <sup>1</sup>	CR, g <sup>2</sup>	PdOv % <sup>3</sup>	CvAl/Dz, kg/dz <sup>4</sup>	CvAl/M, kg/kg <sup>5</sup>
1	1841,45 ± 30,59	107,28 ± 0,98	86,07 ± 1,91	1,45 ± 0,02	0,37 ± 0,01
2	1856,58 ± 26,83	108,92 ± 0,86	83,68 ± 1,67	1,48 ± 0,02	0,39 ± 0,01
3	1891,81 ± 27,93	110,09 ± 0,90	90,01 ± 1,74	1,44 ± 0,02	0,36 ± 0,01
4	1904,89 ± 26,83	108,96 ± 0,86	84,56 ± 1,67	1,49 ± 0,02	0,40 ± 0,01
P <sup>6</sup>	0,3626	0,2319	0,0615	0,3386	0,5447
CV, % <sup>7</sup>	5,15	2,87	7,04	0,02	9,60
Erro Padrão	96,76	3,12	6,05	0,07	0,04

542  
543

<sup>1</sup> Peso vivo; <sup>2</sup> Consumo de ração; <sup>3</sup> Produção diária de ovos; <sup>4</sup> Conversão alimentar por dúzia de ovos; <sup>5</sup> Conversão alimentar por massa de ovos; <sup>6</sup> P = probabilidade de declarar inexistente o efeito de *Schizochytrium* sp <0.05, <sup>7</sup> Coeficiente de variação

Tabela 3. Perfil hematológico de poedeiras suplementadas com diferentes níveis de *Schizochytrium* sp nas dietas

	Tratamentos				P <sup>1</sup>	CV <sup>2</sup> ,%	Erro padrão
	1	2	3	4			
21 dias <sup>3</sup>							
Het <sup>4</sup> , %	35,42	34,75	37,00	35,71	0,6685	3,63	1,30
Lin <sup>5</sup> , %	63,71	64,00	62,00	63,25	0,1141	2,20	1,39
Eos <sup>6</sup> , %	0,28	0,75	0,33	0,14	0,2552	140,21	0,46
Bas <sup>7</sup> , %	0,14	0,25	0,33	0,57	0,4255	144,72	0,48
Mon <sup>8</sup> , %	0,42	0,25	0,33	0,28	0,9370	153,75	0,54
Het/lin <sup>9</sup> , %	0,55	0,54	0,59	0,56	0,4878	5,72	0,03
Leuc <sup>10</sup> , (µL)	17505	17860	18465	18720	0,1850	6,34	1150,144
42 dias							
Het, %	35,42	36,00	35,25	36,50	0,7972	6,93	2,47
Lin, %	63,14	62,00	63,25	62,16	0,8819	4,22	2,65
Eos, %	0,42	0,33	0,50	0,66	0,8978	139,38	0,69
Bas, %	0,28	0,00	0,62	0,33	0,4165	155,61	0,57
Mon, %	0,71	0,66	0,37	0,33	0,6007	120,86	0,60
Het/lin, %	0,56	0,57	0,55	0,59	0,7955	11,48	0,06
Leu (µL)	17820	17856	17685	18240	0,6111	4,54	813,95
63 dias							
Het, %	34,12	35,60	34,50	35,28	0,6172	6,48	2,25
Lin, %	64,37	63,60	63,37	63,42	0,7834	3,40	2,16
Eos, %	0,30	0,40	0,87	0,71	0,4159	86,97	0,55
Bas, %	0,37	0,20	0,50	0,14	0,4907	149,36	0,48
Mon, %	0,62	0,20	0,75	0,42	0,4705	111,82	0,64
Het/lin, %	0,53	0,55	0,54	0,56	0,7392	9,16	0,05
Leu (µL)	17760	18760	17895	18308	0,1685	4,69	852,73

545 <sup>1</sup>Probabilidade de declarar inexistente o efeito de *Schizochytrium* sp <0.05; <sup>2</sup>coeficiente de variação; <sup>3</sup>contados à partir  
546 do dia em que as aves foram vacinadas; <sup>4</sup>Heterófilos; <sup>5</sup>Linfócitos; <sup>6</sup>Eosinófilos; <sup>7</sup>Basófilos; <sup>8</sup>Monócitos; <sup>9</sup>Relação  
547 heterófilo/linfócito; <sup>10</sup>leucócitos.  
548

Tabela 4. Média da imunidade humoral de poedeiras alimentadas com diferentes níveis de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp na dieta, de acordo com o método ELISA

	Tratamentos				P <sup>1</sup>	CV <sup>2</sup> ,%	Erro padrão
	1	2	3	4			
1 <sup>a</sup> coleta							
TAc <sup>3</sup>	4,17 ± 0,001	4,13 ± 0,001	4,16 ± 0,001	4,14 ± 0,001	0,2976	0,98	0,004
2 <sup>a</sup> coleta							
TAc	4,13 ± 0,001	4,09 ± 0,001	4,15 ± 0,001	4,14 ± 0,001	0,1223	1,03	0,004
3 <sup>a</sup> coleta							
TAc	4,17 ± 0,002	4,12 ± 0,002	4,15 ± 0,002	4,15 ± 0,002	0,7042	1,53	0,006

<sup>1</sup>probabilidade de declarar inexistente o efeito de *Schizochytrium* sp <0.05; <sup>2</sup>coeficiente de variação; <sup>3</sup>título de anticorpos em log<sub>10</sub>

549  
550

551 **6 ARTIGO III**

552  
553  
554  
555  
556  
557  
558  
559  
560  
561  
562  
563  
564  
565  
566  
567  
568  
569  
570  
571  
572  
573  
574  
575  
576  
577  
578  
579  
580  
581  
582  
583  
584  
  
585  
586

Qualidade interna, perfil lipídico e características sensoriais dos ovos de poedeiras  
suplementadas com microalgas<sup>8</sup>

V. L. Santos<sup>a,\*</sup>, C.L. Contreira<sup>a</sup>, M.A.Z. dos Santos<sup>b</sup>, C. B. Hobbus<sup>b</sup>, M.A. Anciuti<sup>c</sup>, F. Rutz<sup>d</sup>

<sup>a</sup>*Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil*

<sup>b</sup>*Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil*

<sup>c</sup>*Departamento de Zootecnia, Instituto Federal Sul-rio-grandense, 96060-290, Pelotas, RS, Brasil*

<sup>d</sup>*Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil*

\*Autora para correspondência. Tel: (53) 3275-7270/ (53) 3275-7274; e-mail:  
[vls\\_agro@yahoo.com.br](mailto:vls_agro@yahoo.com.br)

---

<sup>8</sup> Artigo formatado de acordo com as normas da revista *Animal Feed Science and Technology*

587 **Resumo**

588 Objetivou-se, com este estudo, avaliar os efeitos da adição de níveis crescentes de um produto  
589 formulado a base de algas marinhas (*Schizochytrium* sp), em dietas de poedeiras sobre a  
590 qualidade e análise sensorial dos ovos e o perfil lipídico das gemas. Um total de 192 poedeiras  
591 semipesadas, da linhagem Isa *brown*, com 30 semanas de idade, foram alojadas em aviário *dark*  
592 *house*, no Aviário Experimental do Instituto Federal Sul-rio-grandense (IFSul), no campus  
593 Pelotas- Visconde da Graça, Pelotas, RS, Brasil. As aves foram mantidas em gaiolas de postura,  
594 sendo três aves/gaiola, o que constituiu a unidade experimental, totalizando 64 unidades  
595 experimentais. Durante 126 dias experimentais as aves receberam quatro tratamentos dietéticos  
596 que consistiram em: T1 – controle (milho e farelo de soja), sem adição de *Schizochytrium* sp; T2:  
597 T1 + *Schizochytrium* sp (0,5%); T3 –T1+ *Schizochytrium* sp (1,0%) e, T4 – T1+ *Schizochytrium*  
598 sp (2,0%), sendo 16 repetições/tratamento em um delineamento ao acaso. Os dados foram  
599 submetidos à análise de variância e regressão polinomial. Não houve efeito significativo dos  
600 tratamentos sobre as variáveis de qualidade dos ovos avaliadas (peso dos ovos, gravidade  
601 específica, peso e espessura da casca, unidade *Haugh*, e peso de clara e gema). Observou-se  
602 diferença significativa inesperada no teor do ácido graxo saturado mirístico, sendo o maior teor  
603 observado nas gemas dos ovos das aves que receberam 1,0% de *Schizochytrium* sp nas dietas,  
604 aumento no teor do ácido graxo poli-insaturado docosaheptaenóico (ômega-3, DHA), de acordo  
605 com o aumento dos níveis do produto na dieta, diminuição na relação entre os ácidos graxos  
606 araquidônico e DHA, e diminuição na relação entre os ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 de  
607 acordo com o aumento da inclusão de *Schizochytrium* sp às dietas. Os atributos de análise  
608 sensorial avaliados (aparência, aroma, textura, sabor e impressão global) não sofreram efeito

609 significativo dos tratamentos. Com base nestes dados, a inclusão de ALL G Rich<sup>®</sup> em dietas de  
610 poedeiras pode aumentar o teor de DHA nas gemas sem interferir na qualidade dos ovos.

611 *Palavras chave:* docosahexaenóico, ômega-6, ômega-3, *Schizochytrium* sp

612 *Abreviações:* AGP's, ácidos graxos poli-insaturados; ARA, araquidônico; DHA,  
613 docosahexaenóico;  $\omega$ -3, ômega 3;  $\omega$ -6, ômega 6; ALA,  $\alpha$ -linolênico

#### 614 **Abstract**

615 This study aimed to evaluate the effect of increasing levels of All G Rich<sup>®</sup> Alltech Inc., an algae  
616 (*Schizochytrium* sp) based product in layer diets on quality and sensorial evaluation of eggs and  
617 fatty acid profile of yolk. A total of 192 30-week old Isa Brown layers were allocated in cages (3  
618 birds per cage) , in a total of 64 experimental units, 16 replicates per treatment in a completely  
619 randomized design. Experimental facilities were localized in a Dark-house poultry facility of the  
620 Instituto Federal Sul-rio-grandense (IFSul), no campus Pelotas -Visconde da Graça, Pelotas, RS,  
621 Brazil. During 126 experimental days, birds received 4 dietary treatments: T1 – control (corn-  
622 soybean meal); T2: T1 + *Schizochytrium* sp (0,5%); T3 –T1+ *Schizochytrium* sp (1,0%) e, T4 –  
623 T1+ *Schizochytrium* sp (2,0%). Data were subjected to variance and polinomial regression  
624 analysis. No significant dietary treatment effect was observed on egg quality (egg weight,  
625 specific gravity, shell weight and thickness, *Haugh* units, and yolk and albumen weight). An  
626 unexplained increase in miristic acid level was observed in yolks from birds fed 1.0% All G  
627 Rich. The poli-unsaturated docosahexanoic fatty acid (ômega-3, DHA) increased by  
628 supplementing the All G Rich to the diets. The ratio arachidonic:DHA and the general  $\omega$ -3 e  $\omega$ -  
629 6 decreased by increasing *Schizochytrium* sp in the diets. The sensorial evaluation (appearance,  
630 taste, texture, flavour, and general impression) were not influenced by dietary treatments. These

631 results indicate that the inclusion of *Schizochytrium* sp in layer diet brings about an increase in  
632 the yolk DHA content without interfering in the egg quality.

633 *Key words:* docosahexanoic acid, omega-6, omega-3, *Schizochytrium* sp

634 *Abreviattions:* PUFA, poli-unsaturated fatty acid; ARA, arachidonic; DHA, docosahexaenóico;  
635  $\omega$ -3, omega 3;  $\omega$ -6, omega 6; ALA,  $\alpha$ -linolenic

636

### 637 **1. Introdução**

638 Nas últimas décadas, há um crescente interesse em enriquecer produtos alimentares com  
639 AGP's  $\omega$ -3 (Lemahieu et al., 2015). Os ovos são parte integrante da dieta humana como alimento  
640 integral ou como ingrediente, constituindo um produto alimentar de alto potencial para o  
641 enriquecimento com AGP's  $\omega$ -3 (Bruneel, et al., 2013). Os três AGP's  $\omega$ -3 mais importantes são  
642 o ALA, o EPA e o DHA, sendo que, a maior parte dos benefícios à saúde está relacionada com  
643 EPA e DHA (Trautwein, 2001). Sementes ou óleo de linhaça (*Linum usitatissimum* L) podem ser  
644 adicionados às dietas de poedeiras para proporcionar o enriquecimento dos ovos o que leva ao  
645 aumento eficiente no teor de ALA, mas não em EPA e DHA (Aymond & Van Elswyk, 1995;  
646 Ferrier et al., 1995; Scheideler e Froning, 1996). O uso de óleo de peixe tem sido relatado com  
647 grande potencial para o enriquecimento de ovos com AGP's  $\omega$ -3 e embora contenha EPA e  
648 DHA, a suplementação com óleo de peixe proporciona maior aumento no teor de DHA,  
649 enquanto o conteúdo de EPA aumenta em menor proporção (Cachaldora et al., 2008; Carrillo et  
650 al., 2008), além disto, níveis superiores a 1,5% de inclusão podem gerar ovos que apresentam  
651 *off-flavors*, características sensoriais que podem provocar rejeição por parte dos consumidores  
652 (Gonzalez-Esquerria e Leeson, 2000).

653 Assim, de acordo com Trentacoste et al. (2013), as microalgas marinhas têm sido  
654 pesquisadas como substitutas ao óleo de peixe ou de linhaça no enriquecimento de ovos, por



655 apresentarem rápida taxa de crescimento e, por seu elevado conteúdo em AGP's  $\omega$ -3. De acordo  
656 com Mimouni et al, (2015) os gêneros *Nannochloropsis*, *Phaeodactylum*, *Nitzschia*, *Odontella*,  
657 *Isochrysis* e *Pavlova*, são capazes de sintetizar EPA, enquanto o DHA é presente somente nas  
658 espécies *Cryptocodinium*, *Pavlova* e *Schizochytrium*.

659       Objetivou-se, com este estudo, avaliar a qualidade dos ovos, o perfil lipídico das gemas e a  
660 análise sensorial de ovos produzidos por aves alimentadas com dietas suplementadas com níveis  
661 crescentes de um produto<sup>9</sup> formulado a base de microalgas marinhas do gênero *Schizochytrium*  
662 sp (*Schizochytrium* sp).

663

## 664 **2. Material e métodos**

665       O experimento foi conduzido no Aviário Experimental do Instituto Federal Sul-rio-  
666 grandesne (IFSul), campus Pelotas - Visconde da Graça. Todos os procedimentos realizados  
667 neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade  
668 Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil, e registrados sob o protocolo nº 7538.

669

### 670 *2.1 Aves, dietas experimentais e alojamento*

671       Foram utilizadas 192 poedeiras semipesadas, da linhagem Isa *brown*, com 30 semanas de  
672 idade, foram alojadas em aviário tipo *dark house*. O fornecimento do alimento foi realizado  
673 através de comedouro tipo calha, localizado na frente de cada gaiola, sendo registrado o consumo  
674 pelas aves de cada unidade experimental, diariamente. As aves tiveram livre acesso à água  
675 através de bebedouros tipo *nipple*, sendo dois bebedouros em cada gaiola e foram mantidas sob  
676 as mesmas condições ambientais, com umidade e ventilação controladas. O programa de luz  
677 seguiu o recomendado pelo manual da linhagem com, no mínimo, oito horas de escuro.

---

<sup>9</sup> Produto denominado comercialmente como "ALL G Rich", produzido e comercializado pela Alltech Inc.

678 A ração basal foi composta de milho e farelo de soja, respeitando a cada um dos tratamentos  
679 propostos, conforme Rostagno (2011), adaptados para os níveis nutricionais estabelecidos pelo  
680 manual da linhagem (Isa Brown, 2006). Um produto comercial, elaborado a base de microalgas  
681 (*Schizochytrium* sp), produzidas em ambiente fechado, controlado e heterotrófico, composto por  
682 27,25% de DHA, 64% de gordura, 11% de proteína bruta, 0,34% de cálcio e 0,47% de fósforo  
683 foi suplementado às dietas, em diferentes níveis de inclusão, como fonte de AGP's ômega-3. Os  
684 grupos foram divididos em quatro tratamentos, conforme observado na Tabela 1, os quais  
685 consistiram em dieta controle (sem adição de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp) e três  
686 dietas com diferentes níveis de inclusão de microalgas), totalizando quatro dietas experimentais,  
687 sendo: T1: controle; T2: T1+ 0,5% de *Schizochytrium* sp T3: T1+ 1,0% de *Schizochytrium* sp e,  
688 T4: T1+2,0% de *Schizochytrium* sp. As dietas experimentais foram formuladas isocalóricas e  
689 isoproteicas, contendo 2,85 Mcal/kg de energia metabolizável e 16,5 % de proteína bruta,  
690 respectivamente.

## 691 2.2 *Delineamento experimental*

692 Durante 126 dias, divididos em seis ciclos de produção, de 21 dias cada, as aves foram  
693 divididas em quatro grupos, de acordo com as dietas experimentais, totalizando 16  
694 repetições/tratamento, em um delineamento ao acaso. As aves foram mantidas em gaiolas de  
695 postura, sendo três aves/gaiola, o que constituiu a unidade experimental, totalizando 64 unidades  
696 experimentais.

## 697 2.3 *Qualidade dos ovos*

698 No último dia de cada ciclo produtivo foram coletados três ovos de cada unidade  
699 experimental, totalizando 48 ovos/tratamento/ciclo, para a realização das análises referentes às  
700 variáveis de qualidade externa dos ovos: peso dos ovos (POV, g), gravidade específica (GE),

701 peso da casca (PC, g), espessura da casca (EC, mm); e variáveis de qualidade interna: peso do  
702 albúmen (PA, g), peso da gema (PG, g) e unidade *Haugh* (UH). As pesagens dos ovos, gemas e  
703 albumens foram realizadas individualmente, através de balança digital; para a aferição da  
704 gravidade específica, os ovos foram submersos em soluções salinas, com diferentes diluições de  
705 acordo com Zumbado, (1983). A cada imersão em solução salina, os ovos que flutuavam eram  
706 retirados e suas respectivas concentrações anotadas. As cascas dos ovos foram lavadas em água  
707 morna para a remoção do albúmen aderido à sua membrana interna, secas e pesadas em balança  
708 digital. Após a pesagem procedeu-se a medida da espessura da casca, com a utilização de um  
709 micrômetro, utilizando-se a porção mediana da casca como local de medição. Os valores de  
710 unidade *Haugh* foram obtidos através dos dados de peso dos ovos e altura do albúmen (mm), de  
711 acordo com a seguinte fórmula:

$$712 \quad UH = 100 \log \left[ H - \frac{\sqrt{G(W^{0,37}-100)}}{100} + 1,9 \right]$$

713 Em que:

714 H = altura do albúmen espesso (milímetros); G = constante gravitacional de valor 32; e W =  
715 peso do ovo (g).

716

## 717 2.4 Análise de perfil lipídico das gemas

### 718 2.4.1 Extração lipídica

719 Ao final do 4º, 5º e 6º ciclos experimentais, foram coletados cinco ovos por repetição de  
720 cada tratamento para a realização da análise de perfil lipídico. As amostras foram formadas por  
721 um *pool* de cinco gemas, as quais foram congeladas e armazenadas em ultra *freezer* (-80°C) até o  
722 momento das análises. Cada *pool* foi considerado uma repetição, e cada tratamento, constituído  
723 por três repetições. A extração dos lipídios foi realizada seguindo o método descrito por Bligh  
724 Dyer, (1959) e a metilação e saponificação segundo a metodologia proposta por Hartman e Lago,

725 (1973). Pesou-se 3,0g de gema crua em balança analítica 0,0001g, a qual foi transferida para  
726 balão volumétrico de 100 mL, sendo seu volume completado com 10 mL de metanol e 10 mL de  
727 clorofórmio. A mistura foi agitada em Turrax (4.600) durante 30 segundos para  
728 homogeneização. A seguir, adicionou-se 10 mL de metanol à mistura e as amostras foram  
729 levadas à mesa agitadora por 30 minutos. Na etapa seguinte a cada tubo de ensaio contendo as  
730 amostras, foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 10 mL de Sulfato de Sódio Anidro diluído  
731 em água destilada, sendo encaminhados para a centrifugação (3000 rpm por 2 minutos). As  
732 amostras foram deixadas repouso até que a parte sólida fosse depositada no fundo dos tubos. A  
733 fase superior foi descartada e a inferior coletada (com o uso de pipetas de Pasteur), sendo filtrada  
734 em filtro de papel para tubo de vidro ao qual, previamente, havia sido adicionada uma colher de  
735 chá de Sulfato de Anidro em pó. Foram coletados 3mL da solução e acondicionados em tubo de  
736 vidro com rosca para a realização de metilação.

737

#### 738 2.4.2 Metilação

739 O hexano foi evaporado sob nitrogênio até que, somente a gordura permanecesse no fundo  
740 dos tubos, após, foi adicionado 0,5 mL de KOH (em Metanol). As amostras foram agitadas em  
741 vortex, por um minuto e levadas ao banho-maria a 100°C durante 10 minutos. Se necessário  
742 (caso as amostras secassem por completo durante o banho-maria) era adicionado 0,5 mL de  
743 metanol. As amostras foram deixadas em repouso para resfriamento até alcançarem a  
744 temperatura ambiente, quando adicionou-se 1,5 mL de ácido sulfúrico (em metanol) e levadas  
745 novamente ao banho-maria, por 10 minutos. A seguir os tubos foram deixados em repouso até  
746 alcançarem a temperatura ambiente, quando foi acrescentado 2 mL de Hexano, agitados no  
747 vórtex e deixados em repouso novamente. Do conteúdo restante foi retirada a fase superior e  
748 acondicionada em tubos plásticos, lacrado com *parafilm* ao redor da tampa para melhor

749 fechamento do tubo e preservação das amostras, as quais foram armazenadas em freezer até que  
750 fossem preparadas para a cromatografia.

751 As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa, através de cromatógrafo Shimadzu  
752 GC-2010, com auto-injetor AOC-20i (Shimadzu<sup>®</sup>) e coluna SP<sup>TM</sup> 2560 *capylary column*  
753 (Supelco<sup>®</sup>) com dimensões 100m x 0,025 mm I.D. x 0,2 µm.

754 A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação dos tempos de  
755 retenção dos ésteres metílicos das amostras padrões de ácidos graxos autênticos (Mix FAME<sup>®</sup>  
756 C4C24 SUPELCO<sup>®</sup> (n° 18919), com injeção de 1 µL e Split 100:1). A quantificação dos ácidos  
757 graxos foi realizada por área dos picos observados.

758

## 759 *2.5 Análise Sensorial*

760 No último dia experimental 20 ovos de cada tratamento foram coletados e avaliados por 20  
761 provadores não treinados, em cabines individuais, no Laboratório de Análise Sensorial, do IFSul,  
762 campus Pelotas – Visconde da Graça. O teste utilizado foi o de Comparação Múltipla ou  
763 Diferença do Controle, quando os avaliadores deviam atribuir escores de variação de  
764 características sensoriais em relação à amostra controle, conforme metodologia descrita por  
765 ABNT (1994), com escala hedônica de nove pontos com os extremos atribuídos aos termos  
766 “extremamente melhor que a padrão” (1) e “extremamente pior que a padrão” (9), sendo  
767 atribuído ao número “5” nenhuma diferença do padrão. Todos os provadores receberam amostras  
768 controle identificadas com a letra P (padrão) e mais quatro amostras de tratamentos distintos,  
769 devidamente codificados com três dígitos aleatórios (Oliveira, 2010). Para a realização do teste,  
770 foram fornecidas as amostras (metade de um ovo cozido em água fervente por 10 minutos) de

771 cada tratamento para serem avaliadas (Mizumoto et al., 2008). Sal e água mineral ficaram  
772 disponíveis aos provadores.

### 773 2.6. *Análise Estatística*

774 Os dados foram submetidos a análise de variância, com nível de significância de 5% e,  
775 quando significativos, análise de regressão polinomial, para determinar os efeitos linear e  
776 quadrático do uso de microalgas do gênero *Schizochytrium* sp na dieta, utilizando o *software*  
777 estatístico SAS (SAS Institute, 2000).

## 778 3. Resultados

### 779 3.1 Qualidade dos ovos

780 As médias das variáveis de qualidade dos ovos avaliadas podem ser observadas na Tabela 2.  
781 Os resultados não revelam diferenças significativas ( $P > 0.05$ ) entre os tratamentos para as  
782 características de qualidade avaliadas, conforme a inclusão de *Schizochytrium* sp às dietas.

### 783 3.2. *Perfil lipídico*

784 A inclusão de *Schizochytrium* sp alterou significativamente a concentração do ácido mirístico  
785 nas gemas (Figura 1). Na análise de regressão foi observado efeito quadrático ( $P < 0,0218$ ), de  
786 acordo com a equação  $Y = 0,4250 + 0,1451 - 0,0176x^2$  ( $R^2 = 0,8389$ ).

787 Embora não tenha sido observada diferença significativa na análise de regressão polinomial  
788 para a concentração do ácido graxo DHA, observa-se, pela diferença significativa na comparação  
789 de médias que, conforme o aumento na suplementação do *Schizochytrium* sp as dietas, houve  
790 aumento na concentração deste AGP's  $\omega$ -3 nas gemas (Figura 2).

### 791 3.3 *Relação ARA:DHA e $\omega$ 6: $\omega$ 3*

792 A análise de variância revelou diminuição na relação ARA:DHA de acordo com o aumento  
793 da suplementação de *Schizochytrium* sp às dietas ( $P < 0.0001$ ), o que pode ser observado na

794 Figura 3. Foi observado efeito linear ( $P < 0.001$ ) na relação entre os AGP's  $\omega_6 : \omega_3$ , no qual, a  
795 medida em que houve aumento na inclusão de *Schizochytrium* sp nas dietas, houve diminuição  
796 na relação destes AGP's nas gemas dos ovos, de acordo com a equação  $Y = 7,67 - 0,567x$   
797 (Figura 4).

### 798 3.4 Análise sensorial

799 Não foram identificadas diferenças significativas entre os tratamentos para as características  
800 sensoriais avaliadas, conforme pode ser observado na Figura 5.

801

## 802 4. Discussão

### 803 4.1 Qualidade dos ovos

804 Park et al. (2015), ao avaliarem o efeito da suplementação de dietas de poedeiras com  
805 *Schizochytrium* nas proporções de 0,5% e 1,0% não observaram diferenças significativa no  
806 parâmetro de unidade *Haugh*. Entretanto, a espessura de casca foi superior conforme a inclusão  
807 da microalga às dietas.

808 Em pesquisa realizada previamente, Ao et al. (2015) observaram os efeitos da  
809 suplementação de 1, 2 e 3% de *Schizochytrium* sp na dieta de poedeiras e não observaram  
810 diferenças significativas no peso dos ovos e gemas e qualidade das cascas. Um estudo anterior  
811 (Herber e Van Elswyk, 1996) mostrou que os pesos dos ovos e gemas foram significativamente  
812 reduzidos pela inclusão de alto nível dietético (4,8 %) de algas marinhas, o que não foi  
813 observado em um experimento semelhante conduzido com poedeiras de 52 semanas de idade,  
814 sugerindo que a maturidade reprodutiva pode ter exercido alguma influência sobre o resultado  
815 (Fraeye et al., 2012).

816 Lemahieu et al. (2013), avaliaram os efeitos da suplementação de diferentes espécies de  
817 microalgas marinhas (*Phaeodactylum tricornutum*, *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*  
818 e *Chlorella fusca*) nas doses de 125 e 200mg/100g de ração e não observaram diferenças  
819 significativas entre os tratamentos para as características de peso dos ovos, gema e albúmen e  
820 peso e espessura de casca.

821 Fraeye et al. (2012) relatam que nenhuma explicação clara pode ser relacionada aos  
822 resultados contraditórios encontrados em pesquisas que envolvam a inclusão de algas marinhas  
823 na dieta de poedeiras. Provavelmente parâmetros como: dietas experimentais, linhagem, idade,  
824 qualidade dos alimentos, *status* sanitário e a ração basal podem ser determinantes para os  
825 resultados.

#### 826 4.1. Perfil lipídico

827 De acordo com os resultados observados na Fig 1, o nível de 0,5% de inclusão de ALL G  
828 Rich as dietas, proporcionou a maior concentração de ácido mirístico nas gemas. Segundo o  
829 United States Department of Agriculture (USDA), 2003, em média, a fração de lipídios das  
830 gemas constituída pelo ácido mirístico corresponde a 0,41%.

831 No presente estudo, embora não tenha sido observada diferença significativa na análise de  
832 regressão polinomial para a concentração do ácido graxo DHA, observa-se, pela diferença  
833 significativa na comparação de médias que, conforme o aumento na suplementação do  
834 *Schizochytrium* sp às dietas, houve aumento na concentração deste AGPI  $\omega$ -3 nas gemas (Figura  
835 2). Resultados semelhantes foram reportados por Sefer et al. (2011) e Ao et al. (2015) ao  
836 suplementarem as dietas das aves com microalgas. Segundo Park et al. (2015) recentemente,  
837 microrganismos marinhos oleaginosos tem se tornado disponíveis como alternativa aos de óleos  
838 de peixe, para a fortificação de vários alimentos funcionais. Portanto, algumas das espécies de



839 algas, incluindo *Schizochytrium*, têm sido usadas principalmente como aditivos na alimentação  
840 de aves visando a produção de ovos enriquecidos com AGP's  $\omega$ -3 (Chin et al., 2006; Lemahieu  
841 et al., 2013), entretanto, segundo Lamas et al, (2015), entre todos os óleos de microalgas, apenas  
842 aqueles fornecidos a partir de *Schizochytrium* sp. e *Ulkenia* sp. são atualmente autorizados pela  
843 Comissão Europeia (Decisões 2009/777 e 2009/778) a serem aceitos como ingrediente alimentar.

844 O EPA não foi acumulado na gema dos ovos, conforme análise do perfil lipídico ilustrado na  
845 Tabela 2, mas aparentemente convertido e depositado como DHA. (Fredriksson et al., 2006;  
846 Nitsan et al., 1999). Entretanto, no que diz respeito a fisiologia humana, o DHA pode servir  
847 como uma fonte tanto de EPA e DHA, porque o tecido humano pode reconverter o DHA em  
848 EPA (Fischer et al., 1987; Rosenthal et al., 1991; Conquer e Holub, 1996; Conquer & Holub,  
849 1997). O DHA tem importante função no funcionamento e desenvolvimento da retina (sendo o  
850 ácido graxo mais abundante em sua membrana fotorreceptora) (Stanke et al., 2008) e cérebro  
851 (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2005) predominando na maioria das membranas celulares,  
852 sua concentração pode afetar a atividade dos receptores de membrana e fluidez (Simopolus,  
853 1999), sendo esta essencial para que as proteínas possam ter a mobilidade necessária para  
854 desempenhar suas funções na camada bilipídica e na formação do tecido cerebral e visual.

855 De acordo com Karr et al. (2011) a dieta materna, antes da concepção, é de suma  
856 importância já que determina o tipo de ácido graxo que irá se acumular no tecido fetal. O  
857 transporte dos ácidos graxos essenciais é realizado através da placenta, os quais são depositados  
858 no cérebro e retina do embrião. Além disto, ocorre importante aumento simultâneo nas glândulas  
859 mamárias durante esta fase. O depósito de DHA no córtex cerebral e retina ocorrem  
860 principalmente no último trimestre da gestação e nos primeiros seis meses de vida extrauterina,  
861 podendo se estender até os dois anos. Em estudo realizado por Torres (2009) foi observado que o

862 consumo de EPA e DHA no Brasil é baixo, relacionando este dado ao fato que o consumo de  
863 peixe chega a ser dez vezes menor quando comparado ao consumo de carne bovina, concluindo  
864 que a população brasileira, incluindo grávidas e lactantes, está longe de chegar à recomendação  
865 ideal de ingestão de DHA. Neste sentido, o consumo de ovos que contenham maior teor de DHA  
866 poderia ser uma alternativa visando aumentar a ingestão deste AGP's pela população.

867

#### 868 *4.3. Relação ARA:DHA e $\omega 6:\omega 3$*

869 Estudos recentes mostram que a relação ARA:DHA está relacionada a uma boa saúde e  
870 desenvolvimento cerebral (Mcnamara et al., 2009; Hoffman et al., 2009), contudo há poucos  
871 trabalhos abordando essa relação em ovos enriquecidos com  $\omega$ -3. Os ácidos graxos ARA e DHA  
872 são os principais componentes da membrana fosfolipídica das células e são os ácidos graxos  
873 poli-insaturados predominantes no sistema nervoso central, entretanto, dietas ricas em AGP's  $\omega$ -  
874 6 produzem grande quantidade de metabólitos do ARA, o qual é precursor da “série 2” dos  
875 eicosanoides, que são importantes biomediadores (Kus & Mancini – Filho, 2010) e, tendem a ter  
876 ação vaso constritora, pró inflamatória, potencializar a dor e edema e proliferativa na maioria dos  
877 tecidos. O EPA, precursor do DHA, produz eicosanoides da série 3, os quais apresentam efeito  
878 inflamatório e proliferativo menor. Eicosanóides derivados do ARA e do EPA competem pela  
879 via das enzimas cicloxigenases, (originando as prostaglandinas e tromboxanos e, via das enzimas  
880 lipoxigenases (originando os leucotrienos). Entre os eicosanóides, a maior afinidade do ARA  
881 pela cicloxigenase resulta em uma maior probabilidade de obtenção das prostaglandinas e  
882 tromboxanos da série 2. Em função dessas diferenças fisiológicas tem-se proposto que a  
883 produção excessiva de eicosanoides da série 2 está relacionada com a ocorrência de desordens

884 imunológicas, doenças cardiovasculares e inflamatórias, sendo recomendado aumentar a ingestão  
885 de ácidos graxos  $\omega$ -3 para elevar a produção de eicosanoides da série 3 (Simopoulos, 2004).

886 Segundo Ramin et al. (2013), atualmente os índices de relação entre  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 nas dietas  
887 ocidentais pode chegar de 10:1 à 25:1, resultado, provavelmente, do grande consumo de produtos  
888 industrializados e *fast foods*, podendo estar relacionado ao elevado índice de obesidade daquela  
889 população. Neste contexto, a alimentação balanceada colabora com a prevenção e/ou tratamento  
890 de várias doenças inflamatórias (Stanke-Labesque et al., 2008).

891 A razão entre a ingestão de AGP's  $\omega$ -6 e AGP's  $\omega$ -3 é importante já que são  
892 metabolicamente e fisiologicamente diferentes e apresentam funções fisiológicas opostas. Um  
893 grande excesso de ácidos graxos de uma série na dieta pode inibir a dessaturação de quantidades  
894 menores de um ácido graxo de outra série (Škrtic et al., 2008). O Instituto do Coração de Lyon  
895 (França), recomenda a razão entre  $\omega$ -6: $\omega$ -3 de 4:1 ou menos (Simopoulos, 2000; Simopoulos,  
896 2006). De acordo com Bertechini e Mazzuco, (2015), a relação  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 são de 7:1 em ovos  
897 regulares, nos ovos enriquecidos com AGP's  $\omega$ -3, os valores variam ao redor de 3,7:1, ou menos.  
898 Portanto, atende a recomendação dietética (Simopoulos, 2008; Deckelbaum, 2010), bem como  
899 os resultados encontrados no presente trabalho, que podem ser atribuídos a maior concentração  
900 de AGP's  $\omega$ -3 na dieta das poedeiras, de acordo com o aumento na inclusão de microalgas às  
901 dietas.

902

### 903 4.3. Análise sensorial

904 De acordo com Idoia et al. (2007), o uso de óleo de algas mostra benefícios adicionais ao  
905 aumento da concentração de ácidos graxos de cadeia longa nos ovos, incluindo baixa intensidade  
906 de sabor e odor, quando comparado ao óleo de peixe. No presente estudo, mesmo os ovos com

907 maior suplementação de algas (2,0%) mantiveram suas características sensoriais entre val  
908 relacionados à regularmente melhor que a padrão (3) e (4) ligeiramente melhor que a amostra  
909 padrão.

910 Apesar dos efeitos positivos de alguns óleos (óleo de peixe, por exemplo) sobre o perfil de  
911 ácidos graxos de ovos, sua utilização em rações de poedeiras elevou as preocupações  
912 relacionadas com a qualidade sensorial (Lawlor et al., 2010). Níveis de inclusão acima de 1,5%  
913 de óleo de peixe podem gerar ovos que geralmente apresentam características sensoriais que não  
914 são aceitas pelos consumidores ocidentais (Gonzalez-Esquerria & Leeson, 2000). Contudo, a  
915 inclusão dietética de óleo de peixe em níveis em torno de 1,5% geralmente resulta em níveis de  
916 DHA na gema abaixo de 100 mg/ovo (Aymond e Van Elswyk, 1995; Gonzalez-Esquerria e  
917 Leeson, 2000; Lawlor et al., 2010). Existem relatos na literatura de que ovos de galinhas  
918 alimentadas com linhaça apresentam odor ou sabor diferentes ao esperado (Woods e Fearon,  
919 2009) similares àqueles encontrados em ovos de galinhas que tiveram suas dietas suplementadas  
920 com elevado nível de óleo de peixe (acima de 1,5%) ou 60 mcg de óleo de peixe encapsulado/ kg  
921 de ração (Van Elswyk, 1997; Lawlor et al., 2010).

922

## 923 **5. Conclusão**

924 A inclusão de diferentes níveis de um produto formulado a base de microalgas do gênero  
925 *Schizochytrium* sp na dieta de poedeiras comerciais aumentou o teor do ácido graxo poli-  
926 insaturado docosahexaenóico nos ovos, e diminuiu a relação entre os ácidos graxos da série  
927 ômega 6: ômega 3, sem interferir nas características de qualidade interna e sensoriais dos ovos.

928

929 **Referencias**

- 930 Ao, T., Macalintal, L. M., Paul, M. A., Pescatore, A. J., Cantor, A. H., Ford, M. J., Timmons, B.,  
931 Dawson, K. A., 2015. Effects of supplementing microalgae in laying hen diets on productive  
932 performance, fatty-acid profile, and oxidative stability of eggs. *J. Appl. Poul.t Res.* 24, 394-  
933 400.
- 934 Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT. 1994. Teste de ordenação em análise  
935 sensorial. Rio de Janeiro, Brasil.
- 936 Aymond, W. M., & Van Elswyk, M. E., 1995. Yolk thiobarbituric acid reactive substances and  
937 n-3 fatty-acids in response to whole and ground flaxseed. *Poult Sci*, 74, 1388–1394.
- 938 Bertechini, A.G., Mazzuco, H., 2015. Ovo de consumo: uma revisão. *Avicultura Industrial*, 2,  
939 40-47.
- 940 Bligh, E. G. and Dyer, W. J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can*  
941 *J. Biochem. Physiol.*37, .911-917.
- 942 Bruneel, C., Lemahieu, C., Fraeye, I., Ryckebosch, E., Buyse, J., Muylaert, K., Foubert, I.,  
943 2013. Impact of microalgal feed supplementation on omega-3 fatty acid enrichment of hen  
944 eggs. *J. Funct. Foods.* 5, 897-904.
- 945 Cachaldora, P., Garia-Rebollar, P., Alvarez, C., Mendez, J., & De Blas, J. C., 2008. Double  
946 enrichment of chicken eggs with conjugated linoleic acid and n-3 fatty acids through dietary  
947 fat supplementation. *Anim Feed Sci Tech.*144, 315–326.
- 948 Carrillo, S., Lopez, E., Casas, M. M., Avila, E., Castillo, R. M., Carranco, M. E., et al., 2008.  
949 Potential use of seaweeds in the laying hen ration to improve the quality of n-3 fatty acid  
950 enriched eggs. *J Appll Phyc*, 20, 721–728.

951 Chin, H. J., T. F. Shen, H. P. Su, and S. T. Ding., 2006. Schizochytrium limacinum SR-21 as a  
952 source of docosahexaenoic acid: optimal growth and use as a dietary supplement for laying hens.  
953 Aust. J. Agric. Res. 57:13-20.

954 Conquer, J.A., Holub, B.J., 1996. Supplementation with an algae source of docosahexaenoic acid  
955 increases (n-3) fatty acid status and alters selected risk factors for heart disease in vegetarian  
956 subjects. J Nutr. 126, 3032-3039.

957 Conquer, J.A., Holub, B.J., 1997. Dietary docosahexaenoic acid as a source of eicosapentaenoic  
958 acid in vegetarians and omnivores. Lipids.32, 341-345.

959 Deckelbaum, R.J., 2010. n-6 and n-3 Fatty acids and atherosclerosis: ratios or amounts?  
960 Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 30,2325–6.

961 European Commission Decision 2009/777/EC of 21 October 2009, concerning the extension of  
962 uses of algal oil from the micro-algae Ulkenia sp. as a novel food ingredient under Regulation  
963 (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the  
964 European Union, L278, 54–55.

965 European Commission Decision 2009/778/EC of 22 October 2009, concerning the extension of  
966 uses of algal oil from the micro-algae Schizochytrium sp. as a novel food ingredient under  
967 Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council. Official Journal of  
968 the European Union, L278, 56–57.

969 Fischer, S., A. Vischer, V. Preac-Mursic, and P. Weber., 1987. Dietary docosahexaenoic acid is  
970 retroconverted in man to eicosapentaenoic acid, which can be quickly transformed to  
971 prostaglandin I<sub>3</sub>. Prostaglandins 34, 367-375.

972 Ferrier, L. K., Caston, L. J., Leeson, S., Squires, J., Weaver, B. J., & Holub, B. J., 1995. Alpha-  
973 linolenic acid-and docosahexaenoic acid-enriched eggs from hens fed flaxseed: Influence on  
974 blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. *Ame .J. Clin. Nutr.* 62.

975 Fraeye, I., Brunell, C., Lemahieu, C., Buyse, J., Muylaert, K., Foubert, I., 2012. Dietary  
976 enrichment of eggs with omega-3 fatty acids: A review. *Food. Res. Internat.* 48, 961-969.

977 Fredriksson, S., Elwinger, K. & Pickova, J., 2006. Fatty acid and carotenoid composition of egg  
978 yolk as an effect of microalgae addition to feed formula for laying hens. *Food Chem.* 99, 530-  
979 537.

980 Gonzalez, E.R., Leeson, S., 2000. Studies on the metabolize energy content of ground full-fat  
981 flaxseed fed in mash, pellet, and crumble diets assayed with birds of different ages. *Poult. Sci.*  
982 79, 1597-1602.

983 Hartman L., Lago R.C.A., 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl ester from lipids.  
984 *Laboratory Practice.* 22, 475- 476.

985 Hoffman, D.R., Boettcher, J., Diersen-Schade, D.A., 2009. Toward optimizing vision and  
986 cognition in term infants by dietary docosahexaenoic and arachidonic acid supplementation: a  
987 review of randomized controlled trials. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 81, 151-  
988 158.

989 Herber, S. M., and M. E. Van Elswyk., 1996. Dietary marine algae promotes efficient deposition  
990 of n-3 fatty acids for the production of enriched shell eggs. *Poult. Sci.* 75, 1501–1507.

991 ISA BROWN. Manual da Linhagem. Guia de manejo de ponedoras Isa Brown, 2006, 24p.

992 Idoia, V., Ansorena, D., Astiasarán, I., 2007. Development of dry fermented sausages rich in  
993 docosahexaenoic acid with oil from the microalgae *Schizochytrium* sp.: Influence on nutritional  
994 properties, sensorial quality and oxidation stability. *Food Chem.* 104, 1087–1096

995 Kus, M. M. M., Mancini-Filho, J., 2010. Funções plenamente reconhecidas de nutrientes - ácidos  
996 graxos: eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA). Série de Publicações ILSI  
997 Brasil. São Paulo: ILSI Brasil - International Life Sciences Institute., 17, 3-19.

998 Karr. J. E., Alexander, J. E., Winnigham, R. G., 2011. Omega -3 polyunsaturated fatty acid and  
999 cognition the life span: a review. *Nutr. Neurosc.* 14, 216 – 225.

1000 Lamas, A.; Antom, X.; Miranda, J. M.; Roca-Saavedra, P.; Cardelle-Cobas, A.; Rodriguez, J. A.;  
1001 Franco, C. M.; Cepeda, A., 2015. Technological development of functional egg products by an  
1002 addition of n-3 polyunsaturated fatty-acid-enriched oil. *Journal of Food* pp 1-9. Disponível em:  
1003 <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19476337.2015.1100220>

1004 Lawlor J.B., Gaudette N., Dickson T., House J.D., 2010. Fatty acid profile and sensory  
1005 characteristics of table-eggs from laying hens fed diets containing microencapsulated fish oil.  
1006 *Anim. Feed Sci. Tech.* 156, 97-10.

1007 Lemahieu, C., C. Bruneel, E. Ryckebosch, K. Muylaert, J. Buyse, and I. Foubert. 2015. Impact  
1008 of different omega-3 polyunsaturated fatty acid (n-3 PUFA) sources (flaxseed, Isochrysis  
1009 galbana, fish oil and DHA Gold) on n-3 LC-PUFA enrichment (efficiency) in the egg yolk. *J.*  
1010 *Funct. Foods.* 19, 821-827.

1011 Lemahieu, C., C. Bruneel, R. Termote-Verhalle, K. Muylaert, J. Buyse, and I. Foubert., 2013.  
1012 Impact of feed supplementation with different omega-3 rich microalgae species on enrichment  
1013 of eggs of laying hens. *Food Chem.* 14:4051-4059.

1014 Mimouni, V., Ulmann, L., Haimeur, A., Guéno, F., Meskini, N., Tremblin, G., 2015. Marine  
1015 microalgae used as food supplements and their implication in preventing cardiovascular  
1016 diseases. *OCL.* 22, 1-7



1017 McNamara, R.K., Able, J., Jandacek, R., Rider, T.; Tso, P., 2009. Inbred C57BL/6J and DBA/2J  
1018 mouse strains exhibit constitutive differences in regional brain fatty acid composition. *Lipids*,  
1019 44, 1-8.

1020 Mizumoto, E.M.; Canniatti-Brazaca, S.G.; Machado, F.M.V.F. 2008. Avaliação química e  
1021 sensorial de ovos obtidos por diferentes tratamentos. *Ciê. Tecnol. Aliment.* 28, 60-65.

1022 Nitsan, Z., Mokady, S., & Sukenik, A., 1999. Enrichment of poultry products with omega-3 fatty  
1023 acids by dietary supplementation with the alga *Nannochloropsis* and mantur oil. *Journal of*  
1024 *Agricultural and Food Chem*, 47, 5127-5132.

1025 Oliveira, A.F., 2010. Apostila de Análise sensorial dos alimentos. Pag 35-36. Londrina, Paraná.

1026 Park, J. H., Upadhaya, S. D., Kim, L. H., 2015. Effect of Dietary Marine Microalgae  
1027 (*Schizochytrium*) Powder on Egg Production, Blood Lipid Profiles, Egg Quality, and Fatty  
1028 Acid Composition of Egg Yolk in Layers Asian Australas. *J. Anim. Sci.* 28, 391-397.

1029 Rosenthal, M. D., M. C. Garcia, M. R. Jones, and H. Sprecher., 1991. Retroconversion and A4  
1030 desaturation of docosatetraenoate (22:4 (n-6)) and docosapentaenoate (22:5 (n-3)) by human  
1031 cells in culture. *Biochem. Biophys. Acta* 1083, 29-36.

1032 Ramin, I., Roya, K., Sharareh, B., Kianoush, K.D., Sanam, F., 2013. Comparison of long chain  
1033 polyunsaturated fatty acid content in human milk in preterm and term deliveries and its  
1034 correlation with mothers' diet. *J Res Med Sci.* 18, 1-5.

1035 Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J.L., Gomes, P.C., Oliveira, R.F., Lopes, D.C., Ferreira,  
1036 A.S. & Barreto, L.S.T., 2005. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de  
1037 alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos. Viçosa, MG: Editora UFV.

1038 Santos, P.A., Lima, V.L.A.G., Mélo, E.A., Rabello, C.B., Arruda, K.G.A., Silva, Q.J.,  
1039 Guimaraes, A. A. S. Caracterização cromática das gemas dos ovos de poedeiras alimentadas

1040 com ração contendo farelo de goiaba. In: VII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da  
1041 UFRPE, 2007, Recife. Anais...2007.

1042 SAS. 2002. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.0. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.

1043 Scheideler, S. E., & Froning, G. W., 1996. The combined influence of dietary flaxseed variety,  
1044 level, form, and storage conditions on egg production and composition among vitamin E-  
1045 supplemented hens. *Poult Sci*, 75, 1221–1226.

1046 Sefer, D., A. Andonov, S. Sobajic, R. Markovic, S. Radulovic, D. Jakic-Dimic, and B. Petrujkic.,  
1047 2011. Effects of feeding laying hens diets supplemented with omega 3 fatty acids on the egg  
1048 fatty acid profile. *Biotech. Anim. Husbandry*. 27, 679–686.

1049 Škrtić, Z., Kralik, G., Gajčević, Z., Hanžek, D., Bogut, I., 2008. Effect of different source of oils  
1050 on fatty acid profile and organoleptic traits of eggs. *Acta Agric Slov*. 2, 17-19.

1051 Simopoulos, A. P., 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.*  
1052 70, Suppl, 560S– 569S.

1053 Simopoulos, A.P., 2000. Human requirement for -3 polyunsaturated fatty acids. *Poult. Sci*. 79,  
1054 961-970.

1055 Simopoulos, A.P., 2004. Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food.*  
1056 *Rev. Int.* 20, 77-90.

1057 Simopoulos, A.P., 2006. The omega-6/omega-3 ratio: the scientific evidence and the need to  
1058 return the omega-3 fatty acids into eggs and other foods. In: Sim, J.; Sinwoo, H.H. (Ed). *The*  
1059 *amazing egg: nature's perfect functional food for health promotion*. Edmonton: University of  
1060 Alberta, p.195-218.

1061 Simopoulos, A.P., 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in  
1062 cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp. Biol. Med.* 233, .674-688.

1063 Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da  
1064 Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol* 2005;84 (suppl 1):3-28.

1065 Stanke-Labesque F, Molière P, Bessard J, Laville M, Véricel E, Lagarde M., 2008. Effect of  
1066 dietary supplementation with increasing doses of docosahexaenoic acid on neutrophil lipid  
1067 composition and leukotriene production in human healthy volunteers. *Br. J. Nutr.* 100, 829-33.

1068 Torres, A.G., Trugo, N. M. F., 2009. Evidence of inadequated docosahexaenoic acid status in  
1069 Brazilian pregnant and lactating women. *Revista de Saúde Pública, Rio de Janeiro.* 43, 358 –  
1070 368.

1071 Trentacoste, E. M., R. P. Shrestha, S. R. Smith, C. Gle, A. C. Hartmann, M. Hildebrand, and W.  
1072 H. Gerwick., 2013. Metabolic engineering of lipid catabolism increases microalgal lipid  
1073 accumulation without compromising growth. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110:19748-19753.

1074 Trautwein, E. A., 2001. N-3 fatty acids — Physiological and technical aspects for their use in  
1075 food. *Eur J. Lipid. Sci. Techn.* 103, 45–55.

1076 USDA. Agriculture statistics, 2000. Washington: Government Printing Office, 2000. 538p.

1077 Van Elswyk, M. E., Dawson, P. L., & Sams, A. R., 1995. Dietary menhaden oil influences  
1078 sensory characteristics and headspace volatiles of shell eggs. *J. Food Sci.* 60, 85–89.

1079 Van Elswyk M.E., 1997. Comparison of n-3 fatty acids sources in laying hen rations for  
1080 improvement of whole egg nutritional quality. A review. *Brit. J. Nutr.* 78, 61-69.

1081 Zumbado, M. La gravedad específica para determinar la cualidade del cascarón., 1983.  
1082 *Avicultura Profesional*, 1, 8-10.

1083 Woods, V.B., Fearon, A.M., 2009. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and  
1084 their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livest. Sci.* 126, 1-20.

1085

1086

1087 Tabela 1

1088 Composição e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais

Ingredientes (%)	T1	T2	T3	T4
Milho	63,25	63,76	62,81	60,90
Farelo de soja	24,20	24,12	24,28	24,61
Óleo soja	0,50	0,00	0,00	0,00
Calcáreo calcítico	6,03	5,60	5,88	6,26
Fosfato bicálcico	1,39	1,39	1,40	1,60
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50
DL Metionina	0,13	0,13	0,13	0,13
Núcleo postura 0297*	4,00	4,00	4,00	4,00
<i>Schizochytrium</i> sp	0,00	0,50	1,00	2,00
Σ	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
Energia metabolizável (kcal/kg)	2750,00	2750,00	2750,00	2750,00
Proteína bruta (%)	16,30	16,30	16,30	16,30
Cálcio (%)	3,86	3,70	3,81	4,00
Fósforo (%)	0,81	0,81	0,81	0,85
Fósforo disponível (%)	0,39	0,39	0,39	0,42
Sódio (%)	0,32	0,32	0,32	0,32
Cloro (%)	0,33	0,33	0,33	0,33
Metionina total (%)	0,46	0,46	0,46	0,46
Lisina total (%)	0,83	0,83	0,84	0,84

1089 <sup>1</sup> Composição garantida (por kg ): vitamina A: 184000 UI; vitamina D3: 46000 UI; vitamina  
 1090 E: 345 mg; vitamina K: 46 mg; vitamina B12: 180 mg; tiamina: 23 mg; riboflavina: 92 mg;  
 1091 piridoxina: 69 mg biotina: 1,44 mg; niacina 23: mg; ácido fólico: 12 mg; colina: 900 mg;  
 1092 metionina: 1,80%;cálcio: 30%; fósforo:4,85%; sódio: 2,40%; manganês: 2940 mg; ferro:  
 1093 1260 mg; zinco: 2100 mg; cobre: 250 mg; cobalto: 8,40 mg; selênio: 14,70 mg

1094 Tabela 2

1095

1096 Média das variáveis de qualidade interna dos ovos para cada nível de inclusão de ALL G Rich®

Trat	Pov, g <sup>1</sup>	Mov <sup>2</sup>	GE <sup>3</sup>	Uh <sup>4</sup>	PG, g <sup>5</sup>	PCI, g <sup>6</sup>	EC, mm <sup>7</sup>	PC, g <sup>8</sup>
1	62,92 ± 0,75	269,56 ± 9,69	1088,50 ± 0,69	90,33 ± 1,13	16,47 ± 0,31	38,84 ± 0,55	39,53 ± 0,40	6,10 ± 0,12
2	62,73 ± 0,75	268,21 ± 9,69	1089,00 ± 0,69	88,96 ± 1,13	16,58 ± 0,31	38,13 ± 0,55	40,16 ± 0,40	6,22 ± 0,12
3	63,60 ± 0,78	283,96 ± 10,01	1088,45 ± 0,71	91,35 ± 1,71	16,76 ± 0,32	39,14 ± 0,56	39,64 ± 0,42	6,22 ± 0,13
4	62,60 ± 0,75	263,26 ± 9,69	1088,18 ± 0,69	90,61 ± 1,13	15,84 ± 0,31	38,53 ± 0,55	39,64 ± 0,40	6,10 ± 0,12
P <sup>9</sup>	0,8103	0,4959	0,8693	0,5218	0,2085	0,623	0,6834	0,5777
CV <sup>10</sup>	4,81	14,30	0,26	5,02	7,77	5,70	4,11	6,55
Erro	3,04	38,79	2,77	4,54	1,28	2,20	1,64	0,40

1097 <sup>1</sup>Peso dos ovos; <sup>2</sup>Massa dos ovos, <sup>3</sup>Gravidade específica, <sup>4</sup>Unidade Haugh, <sup>5</sup>Peso de gema, <sup>6</sup>Peso de clara, <sup>7</sup>Espessura da casca, <sup>8</sup>Peso da casca,  
1098 <sup>9</sup>probabilidade de declarar significativo efeito do ALL G Rich® inexistente, <sup>10</sup>Coefficiente de variação, em percentagem.

1099

1100

1101

1102

1103

1104

1105

1106

1107

1108

1109

1110

1111 Tabela 3

1112

1113

1114

Perfil de ácidos graxos, em %, na gema de ovos de aves alimentadas com diferentes níveis de *Schizochytrium* sp

Ácidos Graxos	Tratamentos				P <sup>1</sup>	CV, <sup>2</sup>	Erro padrão	Valor de P	
	T1	T2	T3	T4				Linear	Quadrático
Mirístico	0,42	0,77	0,62	0,40	0,0037	13,25	0,06	0,3347	0,0218
Palmitico	23,85	25,65	26,28	27,05	0,5254	11,98	3,08	0,6195	0,8095
Palmitoléico	2,57	3,01	3,49	2,96	0,1364	16,77	0,5	0,7530	0,7210
Esteárico	9,61	10,7	9,88	9,73	0,6627	13,39	1,33	0,2588	0,2912
Oleico	33,29	40,16	39,76	38,26	0,3629	15,43	5,84	0,3938	0,1599
Linoleico	14,12	13,82	13,63	13,73	0,9859	14,16	1,95	0,9173	0,9833
Alfa-linolênico	0,10	0,64	0,23	0,38	0,3201	73,83	0,26	0,0952	0,1070
Eicosaenóico	0,02	0,38	0,20	0,38	0,2612	30,08	0,09	0,1339	0,1116
Araquidônico	3,30	3,07	2,27	2,41	0,3425	32,43	0,39	0,8313	0,5466
Docosahexaenóico	2,30	2,88	3,80	5,13	0,0140	30,08	1,06	0,8674	0,8011

1115

<sup>1</sup>Probabilidade de de declarar significativo efeito de *Schizochytrium* sp inexistente; <sup>2</sup>CV,%: coeficiente de variação em percentagem

1116

1117

1118

1119

1120

1121

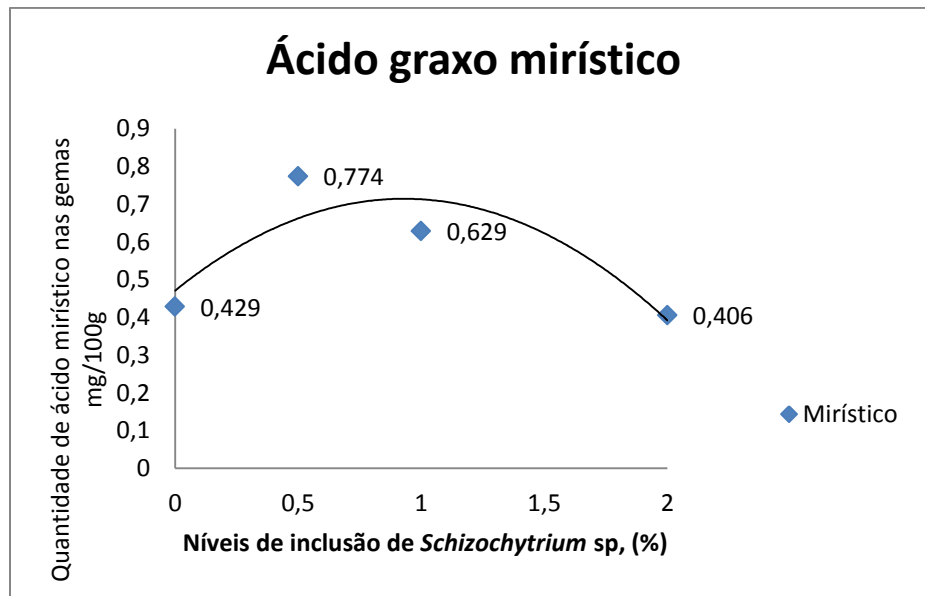
1122 Fig 1.

1123

1124 Efeito dos níveis de inclusão de *Schizochytrium* sp sobre a concentração de

1125 ácido mirístico nas gemas

1126



1127

1128

1129

1130

1131

1132

1133

1134

1135

1136

1137

1138

1139

1140

1141

1142

1143

1144

1145

1146

1147

1148

1149

1150

1151

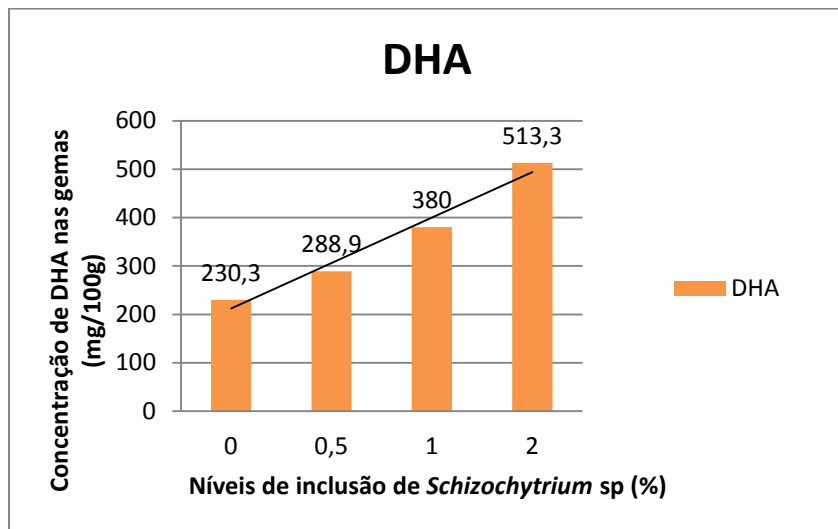
1152

1153

1154

1155

1156 Fig 2. Efeito dos níveis de inclusão de *Schizochytrium* sp sobre o conteúdo de DHA nas gemas  
1157

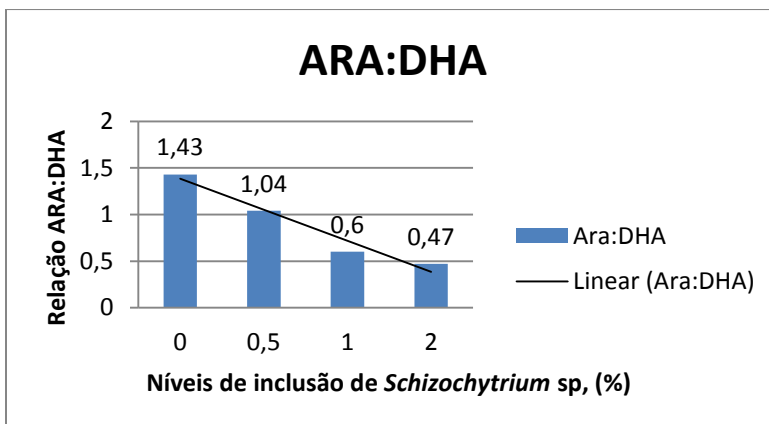


1158  
1159  
1160  
1161  
1162  
1163  
1164  
1165  
1166  
1167  
1168  
1169  
1170  
1171  
1172  
1173  
1174  
1175  
1176  
1177  
1178  
1179  
1180  
1181  
1182  
1183  
1184  
1185  
1186  
1187  
1188  
1189  
1190



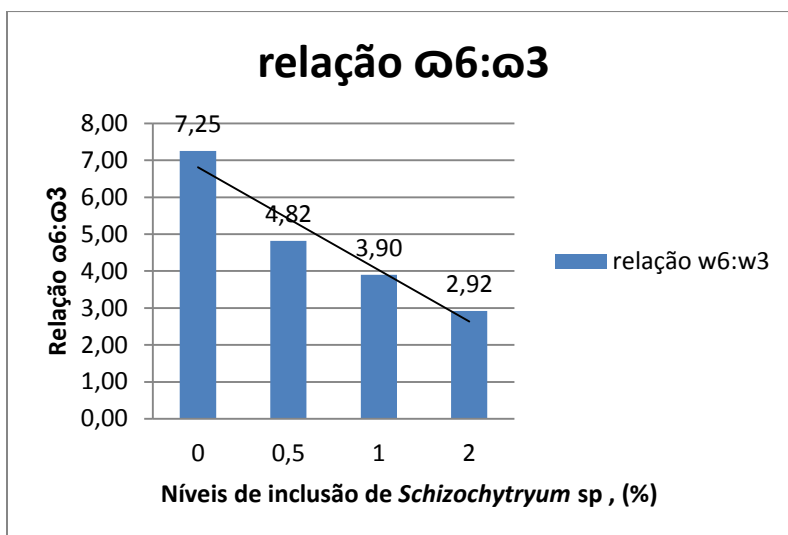
1191 Fig 3 Razão entre os ácidos graxos araquidônico e docosahexaenoico de acordo com os níveis de  
1192 inclusão de *Schizochytrium* sp as dietas

1193  
1194



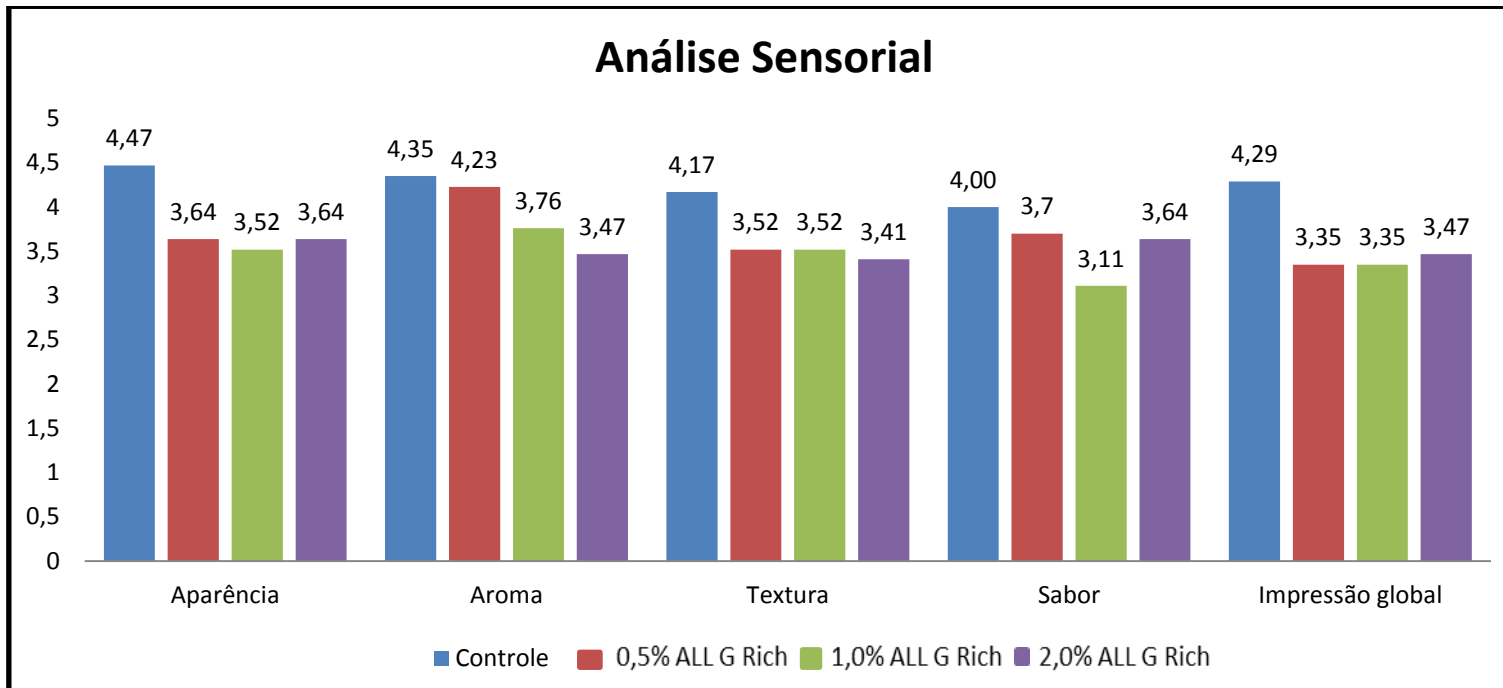
1195  
1196  
1197  
1198  
1199  
1200  
1201  
1202  
1203  
1204  
1205  
1206  
1207  
1208  
1209  
1210  
1211  
1212  
1213  
1214  
1215  
1216  
1217  
1218  
1219  
1220  
1221  
1222  
1223  
1224  
1225  
1226  
1227  
1228  
1229

1230 Fig 4 Razão entre os ácidos  $\omega$ 6: $\omega$ 3 de acordo com os níveis de inclusão de *Schizochytrium* sp as  
1231 dietas  
1232  
1233



1234  
1235  
1236  
1237  
1238  
1239  
1240  
1241  
1242  
1243  
1244  
1245  
1246  
1247  
1248  
1249  
1250  
1251  
1252  
1253  
1254  
1255  
1256  
1257  
1258  
1259  
1260  
1261  
1262

Fig 5 .Média dos atributos sensoriais avaliados nos ovos de acordo com os níveis de inclusão de *Schizochytrium* sp



## 7 Considerações finais

A inclusão de um produto formulado a base de microalgas do gênero *Schizochityum* sp nos níveis de 0,5%, 1,0% e 2,0% na dieta de poedeiras não afetou os parâmetro de desempenho produtivo e imunológicos de aves vacinadas contra a doença de Newcastle.

O perfil lipídico das gemas foi alterado significativamente, apresentando maior concentração de ácido mirístico quando as aves foram alimentadas com 0,5% de algas, aumento linear do ácido graxo poli-insaturado docosaexahenóico, diminuição na relação entre os ácidos graxos poli-insaturados araquidônico e docosahexaenóico (pertencentes as famílias ômega-6 e ômega-3, respectivamente) bem como na relação total entre as famílias ômega-6 e ômega-3 , de acordo com o aumento nos níveis de inclusão do produto.

Estratégias nutricionais têm sido propostas na formulação das aves, tornando-as enriquecidas em nutrientes específicos. Frente a grande difusão e maior abrangência de informações, o mercado é formado por consumidores cada vez mais conscientes quanto à qualidade dos alimentos que consomem e os impactos em sua saúde e qualidade de vida. Ovos enriquecidos com ácidos graxos Ômega-3 são opções disponíveis ao consumidor, porém, por apresentarem alto valor comercial, abrangem um *nicho* específico de consumidores.

Sugere-se novos estudos para avaliação de efeitos complementares da inclusão da microalga marinha do gênero *Schizochitryum* sp no desempenho zootécnico e parâmetros imunológicos de poedeiras.

## REFERÊNCIAS

- ABNT - **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. Teste de ordenação em análise sensorial. Rio de Janeiro, Brasil, 1994.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n.8, p. 911–917, 1959.
- HARTMAN, N. L.; LAGO, R. C. A rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, n.9, p.475-476, 1973.
- MIZUMOTO, E.M.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; MACHADO, F.M.V.f. Avaliação química e sensorial de ovos obtidos por diferentes tratamentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, 2008.
- NATT M.P., HERRICK C.A. A new blood diluent for counting erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, 31, 735–738, 1952.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para suínos e aves: Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 1ª ed. Viçosa:UFV, Departamento de Zootecnia, 2011. 186 p.
- ZUMBADO, M. La gravedad específica para determinar la calidad del cascarón. **Avicultura Profesional**, p. 8-10, 1983.
- AYMOND, W. M., & VAN ELSWYK, M. E. Yolk thiobarbituric acid reactive substances and n-3 fatty-acids in response to whole and ground flaxseed. **Poultry Science**, 74, 1388–1394, 1995.
- BERTOLDI, F.C.; SANT'ANNA, E. E OLIVEIRA, J.L.B. Revisão: Biotecnologia de microalgas. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, vol.26, p.9-20, 2008.
- CARRILLO, S., LOPEZ, E., CASAS, M. M., AVILA, E., CASTILLO, R. M., CARRANCO, M. E. Potential use of seaweeds in the laying hen ration to improve the quality of n-3 fatty acid enriched eggs. **Journal of Applied Phycology**, 20, 721–728, 2008.
- FERREIRA, S. P.; SOUZA-SOARES, L.; COSTA, J. A. V. Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. **Revista de Ciências Agrárias**. v. 36, n. 3, p. 275-287, 2013.

FRAEYE, I.; BRUNEEL, C.; LEMAHIEU, C.; BUYSE, J.; MUYLELAERT, K.; FOUBERT, I. Dietary enrichment of eggs with omega-3 fatty acids: A review. *Food Res. Int.*, 48, 961–969, 2012.

GONZALEZ-ESQUERRA, R.; LEESON, S. Effect of feeding hens regular or deodorized menhaden oil on production parameters, yolk fatty acid profile, and sensory quality of eggs. **Poultry Science**. 79, 1597–1602, 2000.

GONZALEZ-ESQUERRA, R.; LEESON, S. Alternatives for enrichment of eggs and chicken meat with omega-3 fatty acids. **Canadian journal of animal science**, 295-395, 2001.

HARGIS, P. S., AND M. E. VAN ELSWYK. Manipulating the fatty acid composition of poultrymeat and eggs for the health conscious consumer. **World's Poult. Science**. 49:251–264, 1993.

HERRON, K.L.; FERNANDEZ, M.L. Are the current dietary guidelines regarding egg consumption appropriate? **Journal Nutrition**. 134, 187–190, 2004.

LAWLOR, J. B., GAUDETTE, N., DICKSON, T., & HOUSE, J. D. Fatty acid profile and sensory characteristics of table eggs from laying hens fed diets containing microencapsulated fish oil. **Animal Feed Science and Technology**, 156, 97–103, 2010.

MIRANDA, J. M.; ANTON, X.; REDONDO-VALBUENA, C.; ROCA-SAAVEDRA, P.; RODRIGUEZ, J. A.; LAMAS, A.; FRANCO, C. M.; CEPEDA, A. Egg and Egg-derived foods: effects on human health and use as functional foods. **Nutrients**, 7, 706-729, 2015

PINTO, M. F.; LIMA, V.M.F.; RIBEIRO, S.C.; BOSSOLANI, I. S. P.; PONSANO, E. H. G.; GARCIA-NET, G. Fontes de óleo na dieta e sua influência no desempenho e na imunidade de frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 34(5):409-414, maio 2014.

SOUZA, J. G.; COSTA, F.G.P.; QUEIROGA, R.R.E.; SILVA, J.H.V.; SCHULER, A.R.P.; GOULART, C.C. Fatty Acid Profile of Eggs of Semi-Heavy Layers Fed Feeds containing Linseed Oil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. 2008.10(1):37– 44