

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

INFLUÊNCIA DOS LIPÍDIOS DA RAÇÃO SOBRE O
DESENVOLVIMENTO ÓSSEO E SUA COMPOSIÇÃO
LIPÍDICA EM FRANGOS DE CORTE

Autora: Elis Regina de Moraes Garcia
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alice Eiko Murakami

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
dezembro – 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

INFLUÊNCIA DOS LIPÍDIOS DA RAÇÃO SOBRE O
DESENVOLVIMENTO ÓSSEO E SUA COMPOSIÇÃO
LIPÍDICA EM FRANGOS DE CORTE

Autora: Elis Regina de Moraes Garcia
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alice Eiko Murakami

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
dezembro – 2006



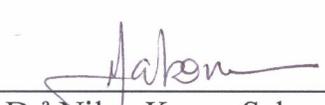
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**INFLUÊNCIA DOS LIPÍDIOS DA RAÇÃO SOBRE O
DESENVOLVIMENTO ÓSSEO E SUA COMPOSIÇÃO
LIPÍDICA EM FRANGOS DE CORTE**

Autora: Elis Regina de Moraes Garcia
Orientadora: Prof^ª Dr^ª Alice Eiko Murakami

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

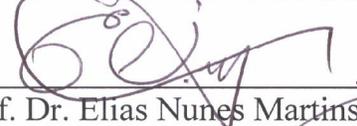
APROVADA em 08 de dezembro de 2006.



Prof^ª Dr^ª Nilva Kazue Sakomura



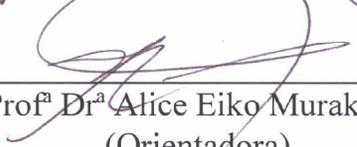
Prof. Dr. Massami Shimokomaki



Prof. Dr. Elias Nunes Martins



Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan



Prof^ª Dr^ª Alice Eiko Murakami
(Orientadora)

NUNCA DEIXES DE SONHAR

Quando a vida em seus desígnios te machucar,
Não te entregues à lamentação e ao desalento.
Prossegue amigo! – Dá tempo ao próprio tempo,
Continua sonhando... nunca deixes de sonhar!

É preciso continuar sonhando o sonho bom,
Não se abater ante os fantasmas medonhos...
Não deixar que a chama dos teus sonhos
Se apague ante o vento frio da desilusão.

Sonha!... Mesmo que o sonho seja proibido,
Descabido se traduza pelo amargor das dores...
Sem sonhos somos meros expectadores
De uma existência que se torna sem sentido...

Ante o sonho desfeito olvida o revés,
Não te entregues à revolta e ao desencanto.
Sonha!... Ainda que a dor arranque teu pranto,
Ainda que os espinhos sangrem os teus pés...

Não te entregues à lamentação e ao desalento...
Prossegue amigo! – Dá tempo ao próprio tempo
Quando a vida em seus desígnios te machucar...

Se nuvens entristecerem os teus dias risonhos
Não deixes que a dor desfaça os teus sonhos.
Continua sonhando... nunca deixes de sonhar!

Agenor Martinho Correa

À

minha mãe Iracema de Moraes Garcia
por todo incentivo, amor,
dedicação e exemplo de vida

Ao

meu pai Gines Garcia Garcia (*in memoriam*)
pela luta e por toda a confiança
depositada

Ao

meu amor Carlos Alberto Martins Silva pela
compreensão demonstrada durante
minhas ausências, companheirismo
e pelo incentivo

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida.

À Prof^a Dr^a Alice Eiko Murakami, pela orientação, exemplo de dedicação, profissionalismo e, principalmente, exemplo de vida durante toda minha trajetória acadêmica, meu respeito e meu MUITO OBRIGADA por tudo...

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, pelo investimento na capacitação dos seus docentes.

À Universidade Estadual de Maringá e Fazenda Experimental de Iguatemi, que nos possibilitaram o desenvolvimento desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento de toda a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Elias Nunes Martins, pela orientação nas análises estatísticas, conselhos, paciência, apoio e, principalmente, amizade minha gratidão.

Ao Prof. Dr. Makoto Matsushita, pela co-orientação e, principalmente, pela atenção e amizade.

Ao Prof. Dr. Valter Augusto Della Rosa, por toda atenção, pelos ensinamentos e conselhos.

À Prof^a Dr^a Márcia Dallalio, pela orientação e colaboração nas análises e, principalmente, pela amizade.

À Prof^a Dr^a Marli Santos Pereira por toda atenção e colaboração.

Ao Prof. Dr. Antonio Cláudio Furlan, pelo auxílio e amizade em todas as horas.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em especial Prof. Dr. Ivan Moreira, Prof. Dr. Cláudio Scapinello, Prof. Dr. Clóves Jobim, Prof^a Dr^a. Claudete Regina Alcalde, pela amizade e pelos ensinamentos demonstrados durante o curso.

Ao Prof. Dr. Mario Jefferson Louzada, por toda paciência, atenção e orientação durante as análises ósseas.

Ao Prof. Dr. Paulo Santos, responsável pelo Laboratório de Equipamentos Odontológicos da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista – Campus de Araçatuba, pelo auxílio durante as análises ósseas.

À Clínica de Odontologia do Hospital Universitário de Maringá, ao Centro de Documentação Radiológica e Ortodôntica (CEDRO) e a Clínica de Radiologia Odontológica Martinhão, pela disponibilização dos equipamentos para as análises radiográficas.

Aos funcionários do setor de avicultura, em especial Célio Passolongo, pelo auxílio na condução dos trabalhos de campo, e Sr. Pedro e Sr. Valentin, por toda ajuda no desenvolvimento dos trabalhos realizados na área de avicultura.

Às funcionárias dos Laboratórios de Histologia e Aconselhamento Genético: Maria Eurides, Maria dos Anjos e Leila, por todo o auxílio durante as análises laboratoriais.

Ao bolsista Alberto Henrique Naiverti Elias e à amiga Ana Paula Ton por toda ajuda durante a realização do trabalho a campo e as análises laboratoriais.

Às amigas, ex-alunas e “filhas em tempo integral” Andréia Fróes Galuci de Oliveira e Ana Carolina Monteiro por toda ajuda e pelos momentos de alegria que vocês me proporcionaram.

Às “irmãs” Luciana Maria Garcia de Souza e Jovanir Inês Müller Fernandes, por todos os momentos de alegria e tristeza, pela cumplicidade e apoio.

Ao “irmãozinho caçula” José Rodrigo Galli Franco, por todo apoio, carinho e amizade,

Aos colegas e bolsistas que me acompanharam e ajudaram-me, em especial Suellen, Márcia, Elyane, Rafael, Elkin, Luciane, Priscila, Fernando (“Nitinho”), Luís Daniel e Josianny.

A todos amigos, em especial, Luciana Kazue Otutumi e Meiby de Paula, pela ajuda, companheirismo, amizade e cumplicidade do dia-a-dia.

Às amigas Cristiane Meldau de Campos e Tânia Mara Baptista dos Santos pela demonstração de força, amizade e carinho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

ELIS REGINA DE MORAES GARCIA, filha de Gines Garcia Garcia (*in memorian*) e Iracema de Moraes Garcia, nasceu em Rolândia, Paraná, no dia 17 de novembro de 1968.

Em agosto de 1993, concluiu o Curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 1996, iniciou o Curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, onde no dia 27 de julho de 1998, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

Em agosto de 1998, participou do Concurso Público para Professor Assistente da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, sendo efetivada como docente do Curso de Zootecnia na Unidade Universitária de Aquidauana-MS.

Em março de 2003, iniciou o Curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração: Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de nutrição de aves.

No dia 8 de dezembro de 2006, submeteu-se à banca para defesa da Tese.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiv
RESUMO	xviii
ABSTRACT	xxi
I – INTRODUÇÃO	1
1.1. Revisão de Literatura	3
1.1.1. Desenvolvimento do tecido ósseo	3
1.1.2. Ácidos graxos essenciais	6
1.1.3. Influência dos lipídios sobre a formação e o crescimento ósseo	9
Literatura Citada	15
II – OBJETIVOS GERAIS.....	18
2.1. Objetivos específicos	18
III – Efeito da Adição de Diferentes Fontes de Óleo nas Rações sobre o Desempenho, os Parâmetros e a Composição Mineral Óssea em Frangos de Corte	19
Resumo	19
Abstract	20
Introdução	21

	Material e Métodos	23
	Resultados e Discussão	31
	Conclusões	43
	Literatura citada	43
IV –	Efeito da Adição de Diferentes Fontes de Óleo nas Rações sobre o Perfil de Ácidos Graxos e a Concentração de PGE ₂ em Ossos Longos de Frangos de Corte	46
	Resumo	46
	Abstract	47
	Introdução	48
	Material e Métodos	50
	Resultados e Discussão	58
	Conclusões	80
	Literatura citada	81
V –	Efeito da Inclusão de Óleo de Linhaça nas Rações sobre o Desempenho, os Parâmetros e a Composição Mineral Óssea em Frangos de Corte	84
	Resumo	84
	Abstract	85
	Introdução	86
	Material e Métodos	88
	Resultados e Discussão	96
	Conclusões	107
	Literatura citada	107
VI –	Efeito da Inclusão de Óleo de Linhaça nas Rações sobre a Composição Lipídica e a Concentração de PGE ₂ em Ossos Longos de Frangos de Corte	111
	Resumo	111
	Abstract	112

Introdução	113
Material e Métodos	115
Resultados e Discussão	122
Conclusões	134
Literatura citada	135
VII – CONCLUSÕES GERAIS	138

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Composições percentual e calculada das rações experimentais (1-21 dias)	26
TABELA 2. Composições percentual e calculada das rações experimentais (22-42 dias)	27
TABELA 3. Valores médios referentes aos parâmetros de desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de óleos no período inicial (1-21 dias de idade)	32
TABELA 4. Valores médios dos parâmetros de desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de óleos nos períodos de crescimento e total (22 a 42 dias e 1 a 42 dias de idade)	35
TABELA 1. Composições percentual e calculada das rações experimentais (1-21 dias)	53
TABELA 2. Composições percentual e calculada das rações experimentais (22-42 dias)	54
TABELA 3. Perfil de ácidos graxos dos diferentes óleos adicionados às rações experimentais	59
TABELA 4. Perfil de ácidos graxos das rações experimentais utilizadas na fase inicial (1-21 dias de idade)	59
TABELA 5. Perfil de ácidos graxos das rações experimentais utilizadas na fase de crescimento (22-42 dias de idade)	60
TABELA 6. Valores médios referentes à concentração de prostaglandina E ₂ (PGE ₂) determinada na tíbia de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de óleo aos 21 e 42 dias de idade	78

TABELA 1.	Composições percentual e calculada das rações experimentais (1-21 dias)	90
TABELA 2.	Composições percentual e calculada das rações experimentais (22-42 dias)	91
TABELA 3.	Equações de regressão referentes às variáveis de desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 43 dias de idade	97
TABELA 1.	Composições percentual e calculada das rações experimentais (1-21 dias)	117
TABELA 2.	Composições percentual e calculada das rações experimentais (22-42 dias)	118
TABELA 3.	Perfil de ácidos graxos do óleo de linhaça adicionado às rações experimentais	123
TABELA 4.	Perfil de ácidos graxos das rações experimentais utilizadas na fase inicial (1-21 dias de idade)	123
TABELA 5.	Perfil de ácidos graxos das rações experimentais utilizadas na fase de crescimento (22-42 dias de idade)	124
TABELA 6.	Valores médios referentes à concentração de prostaglandina E ₂ (PGE ₂) determinada na tibia de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça nas rações, aos 21 e 42 dias de idade	133

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Peso das cinzas determinado no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes fontes de óleo, no período de 1 a 42 dias de idade	36
FIGURA 2. Concentração das cinzas (%) determinada no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes fontes de óleo, no período de 1 a 21 dias de idade	37
FIGURA 3. Peso (g) e concentração (%) das cinzas determinados no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes fontes de óleo, no período de 28 a 42 dias de idade	37
FIGURA 4. Valores de resistência (N) e densitometria mineral óssea (mmAL) determinados no fêmur de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade	39
FIGURA 5. Parâmetros de crescimento da tíbia de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade	41
FIGURA 6. Parâmetros de crescimento do fêmur de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade	41
FIGURA 1. Porcentagem de área do ácido linolêico (18:2n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	61
FIGURA 2. Porcentagem de área do ácido araquidônico (20:4n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, determinada no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	62
FIGURA 3. Porcentagem de área do ácido linolênico (18:3n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	63

FIGURA 4.	Porcentagem de área do ácido eicosapentaenóico (20:5n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	63
FIGURA 5.	Porcentagem de área do ácido docosapentaenóico (22:5n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	64
FIGURA 6.	Porcentagem de área do ácido docosahexaenóico (22:6n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	64
FIGURA 7.	Total de ácidos graxos ômega 6 determinado na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais)	65
FIGURA 8.	Total de ácidos graxos ômega 3 determinado na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais)	66
FIGURA 9.	Relação ácidos graxos poliinsaturados: ácidos graxos saturados determinada na tíbia de frangos de corte, determinada no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais)	66
FIGURA 10.	Porcentagem de área do ácido linolêico (18:2n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 22 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	68
FIGURA 11.	Porcentagem de área do ácido araquidônico (20:4n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, determinada no período de 22 a 42 dias de idade	69
FIGURA 12.	Porcentagem de área do ácido linolênico (18:3n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 22 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	71
FIGURA 13.	Porcentagem de área do ácido eicosapentaenóico (20:5n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	71
FIGURA 14.	Porcentagem de área do ácido docosapentaenóico (22:5n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 22 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	72

FIGURA 15.	Porcentagem de área do ácido docosahexaenóico (22:6n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 22 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	72
FIGURA 16.	Total de ômega 6 determinado na tíbia de frangos de corte, no período de 22 a 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área em relação aos lipídios totais)	74
FIGURA 17.	Total de ácidos graxos ômega 3 determinado na tíbia de frangos de corte, no período de 22 a 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais)	74
FIGURA 18.	Relação ácidos graxos poliinsaturados: ácidos graxos saturados determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 22 a 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais)	75
FIGURA 19.	Distribuição dos ácidos graxos determinados no osso cortical da tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade, de acordo com as diferentes fontes de óleo dentro dos componentes principais 1 e 2	77
FIGURA 1.	Parâmetros ósseos determinados no fêmur de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade	99
FIGURA 2.	Parâmetros ósseos determinados na tíbia de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade	100
FIGURA 3.	Peso das cinzas (g) determinado no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade	103
FIGURA 4.	Concentração das cinzas (%) determinada no fêmur de frangos de corte com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade	103
FIGURA 5.	Resistência óssea a quebra determinada no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade	105
FIGURA 6.	Densidade mineral óssea determinada no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade	106
FIGURA 1.	Porcentagem de área do ácido linolêico (18:2n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	125

FIGURA 2.	Porcentagem de área do ácido araquidônico (20:4n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	125
FIGURA 3.	Porcentagem de área do ácido linolênico (18:3n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	128
FIGURA 4.	Porcentagem de área do ácido eicosapentaenóico (20:5n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	128
FIGURA 5.	Porcentagem de área do ácido docosapentaenóico (22:5n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	129
FIGURA 6.	Porcentagem de área do ácido docosahexaenóico (22:6n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)	129
FIGURA 7.	Total de ácidos graxos ômega 6 determinado na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais)	131
FIGURA 8.	Total de ácidos graxos ômega 3 determinado na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais)	132

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos no aviário Experimental da Universidade Estadual de Maringá, com objetivo de avaliar o desempenho, os parâmetros ósseos, a composição mineral, o perfil de ácidos graxos e a concentração de PGE₂ em tíbias e fêmures de frangos de corte alimentados com fontes de óleo enriquecidos com ácidos graxos ômega 3 e 6, no período de 1 a 42 dias de idade. No Experimento 1, foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições e 50 aves por unidade experimental, em que as aves receberam rações formuladas com diferentes fontes de óleo: soja (OS), girassol (OG), canola (OC), linhaça (OL) e vísceras (OV) durante a fase inicial (1 a 21 dias). Na fase de crescimento (22 a 42 dias), cada tratamento utilizado na fase inicial foi desmembrado em dois tratamentos, de modo que um grupo de aves continuou a receber a mesma fonte de óleo utilizada na fase anterior e outro grupo passou a receber OS na dieta. Portanto, nessa fase, foram utilizados nove tratamentos, três repetições e 44 aves por unidade experimental, também em um delineamento inteiramente casualizado. No período de 1 a 7 dias de idade, observou-se efeito positivo ($P < 0,05$) da adição de OL sobre o ganho de peso e o peso médio final das aves, quando comparadas àquelas que receberam OS na ração. Nos períodos de 1 a 14 dias e 1 a 21 dias de crescimento não foi verificado efeito ($P > 0,05$) entre os diferentes tratamentos sobre o desempenho das aves. Não houve diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos para os parâmetros ósseos, entretanto, essas variáveis foram influenciadas ($P < 0,05$) pela idade. No período inicial, a concentração de cinzas (g e %) foi superior ($P < 0,05$) para as aves que receberam OL na ração, contudo, esse efeito não foi observado ($P > 0,05$) na fase de crescimento. As aves alimentadas com OL apresentaram maiores concentrações de ácido linolênico (18:3n-3), eicosapentaenóico (20:5n-3), docosapentaenóico (22:5n-3) e docosahexaenóico (22:6n-3) nos ossos,

enquanto que os maiores níveis dos ácidos linolêico (18:2n-6) e araquidônico (20:4n-6) foram obtidos para o OG, aos 21 dias. No período de crescimento, as aves que receberam os mesmos tratamentos utilizados na fase inicial e aquelas que passaram a receber OS refletiram no osso o perfil de ácidos graxos das rações. Nessa mesma fase, as concentrações dos ácidos graxos ômega 3 na tíbia das aves alimentadas com OL se reduziram com a idade, demonstrando que a incorporação lipídica depende da necessidade do tecido, considerando que nessa fase o crescimento ósseo é mais lento. A concentração de PGE₂ foi reduzida para o tratamento baseado em OL quando esse foi comparado ao OG, OV e OC aos 21 dias, contudo, aos 42 dias não houve influência dos tratamentos sobre essa variável. Conclui-se que o uso de OL, em rações para frangos de corte pode ser benéfico para o desempenho e a mineralização óssea na fase inicial de criação. Além disso, a composição lipídica da ração é refletida nos ossos e as fontes de óleo ricas em ácidos graxos ômega 3 são capazes de diminuir a concentração de PGE₂ nas células e reduzir os problemas relacionados com a formação óssea em frangos de corte. No Experimento 2, foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições e 50 aves/unidade experimental, em que as aves receberam rações formuladas com níveis crescentes de OL (2,0; 3,5; 5,0 e 6,5%), no período de 1 a 42 dias de idade. Constatou-se efeito linear crescente ($P < 0,05$) da adição de OL sobre o diâmetro e comprimento absolutos do fêmur e da tíbia, entretanto, apenas o peso absoluto do fêmur foi influenciado pela inclusão de óleo às rações. Os dados revelaram interação entre idade e níveis de OL ($P < 0,05$) para o índice de Seedor, demonstrando que os efeitos positivos e negativos dos maiores níveis de OL observados para o fêmur e a tíbia, respectivamente, foram potencializados no final da fase de crescimento. Os parâmetros de crescimento e de qualidade do fêmur e da tíbia apresentaram comportamento cúbico ($P < 0,05$) em função da idade. O peso das cinzas do fêmur foi positivamente influenciado ($P < 0,05$) pela adição crescente de OL nas rações, em todas as idades avaliadas. Resultados semelhantes foram observados para a concentração de cinzas, no entanto, os melhores resultados foram evidenciados a partir dos 28 dias. A resistência óssea não foi influenciada pelos diferentes tratamentos ($P > 0,05$), e apresentou comportamento cúbico ($P < 0,05$) em função da idade, contudo, com o aumento do nível de OL nas rações observou-se melhoria linear ($P < 0,05$) na densidade mineral óssea em todas as idades analisadas. No período de 1 a 42 dias de idade, constatou-se que o perfil lipídico das rações refletiu sobre o perfil de ácidos graxos dos ossos. A concentração de ácido araquidônico e dos ácidos graxos

poliinsaturados ômega 3 (EPA, DPA e DHA) nas células ósseas reduziu-se ($P < 0,05$) ao longo da idade das aves, porém, esse efeito foi menos intenso com a adição crescente de óleo de linhaça nas rações. A concentração de PGE_2 determinada no sobrenadante das células ósseas não foi influenciada pelos tratamentos estudados, aos 21 e 42 dias de idade. Conclui-se que rações que contém 6,5% de óleo de linhaça são benéficas para o crescimento e mineralização dos ossos longos de frangos de corte e que a adição de 4,0% de óleo de linhaça às rações mostrou-se efetiva em potencializar a incorporação dos ácidos graxos de cadeia longa ômega 3 nos ossos dos frangos, no período de 1 a 42 dias de idade.

Palavras-chave: ácidos graxos, composição mineral, frangos de corte, óleo de linhaça, parâmetros ósseos, prostaglandina E_2

ABSTRACT

Two trials were conducted at the Experimental Farm of Maringá State University to evaluate performance, bone parameters, mineral composition, fatty acid profile and PGE₂ concentration in tibia and femur of broiler chickens fed with oil sources rich in omega 3 and 6 fatty acids, during the period of 1 to 42 days of age. In the first trial a completely randomized design was used with five treatments, six replicates and 50 birds per experimental unit, where the birds received diets formulated with different oil sources: soybean (SO), sunflower (SNO), rapeseed (RO), linseed (LO) and poultry offal (PO) in starting phase (1 to 21 days). At growing phase (22 to 42 days) each treatment used in starting phase was divided into two treatments, so that a group of birds continued to receive the same oil source used in the previous phase and other group started to receive SO in the diet. Therefore, in this phase nine treatments, three replicates and 44 birds per experimental unit were used, also in a completely randomized design. In the period of 1 to 7 days of age it was observed a positive effect ($P < 0.05$) of LO addition on weight gain and final weight of birds when compared with those that received SO. To 1 to 14 days, 1 to 21 days and growing phases no effects ($P > 0.05$) were observed among different treatments on broilers performance. There was no difference among treatments ($P > 0.05$) to bone parameters; however, these variables were affected ($P < 0.05$) by age. In starting phase, ash concentration (g and %) was higher ($P < 0.05$) to birds that received OL in diets, however, this effect was not observed ($P > 0.05$) in growing phase. At starting phase the birds fed with LO showed highest linolenic (18:3n-3), eicosapentaenoic (20:5n-3), docosapentaenoic (22:5n-3) and docohexaenoic (22:6n-3) acids concentration in bone, while the highest levels of linoleic (18:2n-6) and arachidonic (20:4n-6) acids was obtained for OG, at 21 days. In growing period, birds that kept receiving similar treatments used in starting phase and those which started receiving SO in diets had a bone fatty acid profile similar to diets. However, the concentration of omega 3 fatty acids in tibia of birds fed with LO reduced

with birds' age, demonstrating that the lipid incorporation in tissue depends of its need, considering that in this phase the bone growth is slower. In starting phase, PGE₂ concentration was reduced to treatment based on LO in comparison to SNO, RO and PO at 21 days. In growing phase there was not influence of treatments on this variable. It was concluded that the LO use in broilers diets can be beneficial for performance and bone mineralization in starting phase. Besides that diet lipid composition is reflected in bones and oil sources rich in omega 3 fatty acids were capable to reduce PGE₂ concentration in broiler chickens bone cells, reducing problems related to bone formation in broiler chickens. In the second trial a completely randomized design was used with five treatments, six replicates and 50 birds per experimental unit, and birds received diets formulated with different LO levels (2.0; 3.5; 5.0 and 6.5%) at initial and growing phase (1 to 21 days and 22 to 42 days of age, respectively). It was observed a linear effect ($P < 0.05$) of the oil addition on absolute diameter and length of tibia and femur, however, just the femur absolute weight was influenced by diets oil inclusion. The data revealed interaction between age and LO levels ($P < 0.05$) to Seedor index demonstrating that positive and negative effects of the highest LO levels observed for femur and tibia were enhanced at the end of growing phase. Growth and quality parameters of femur and tibia had a cubic behavior ($P < 0.05$) in function of age. The ash weight of femur was positively influenced ($P < 0.05$) by diets OL addition in all evaluated ages. Similar results were observed to ash concentration; however, the best results were evidenced after 28th day of age. The bone strength was not influenced ($P > 0.05$) by different treatments, showing a cubic behavior in function of age, however, with the increase of diets LO level a linear improvement was observed in bone mineral density in all analyzed ages. At the period of 1 to 42 days of age, it was observed that diets fatty acid profile reflected on bones fatty acid profile. The arachidonic acid, EPA, DPA and DHA concentrations reduced ($P > 0.05$) in bone cells with the advancing of birds age, however, that effect was less intense with diets linseed oil addition. The bone PGE₂ concentration was not influenced by evaluated treatments, to 21 and 42 days of age. It was concluded that diets with 6.5% LO are beneficial for growth and mineralization of long bones broilers chicken and that the addition of 4.0% of linseed oil to diets was effective to enhance incorporation of omega 3 chain long fatty acid in bone broiler chickens, to the period of 1 to 42 days.

Key words: bone parameters, broilers chickens, fatty acids, linseed oil, mineral composition, prostaglandin E₂

I – INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira tem crescido de forma rápida nos últimos anos, o que fez com que o Brasil ocupasse uma posição de destaque no mercado internacional no que se refere tanto à produção quanto à exportação de carne de frango. Tal fato está associado à modernização dos setores de produção e comercialização da indústria avícola, que melhorou os índices produtivos e a qualidade final do produto oferecido ao consumidor.

As pesquisas voltadas à redução no tempo de crescimento da ave, juntamente com o aumento em seu peso vivo, levaram à obtenção do frango conhecido como tipo conformação ou tipo rendimento. Entretanto, a obtenção desse novo frango veio acompanhada por alguns aspectos indesejáveis associados ao rápido crescimento e que acabaram por comprometer o desempenho das aves (Leeson & Summers, 1988).

Entre esses aspectos, destaca-se o aumento de problemas ósseos, uma vez que a seleção genética para uma alta taxa de crescimento tem promovido maior peso do músculo do peito quando comparado aos músculos e ossos das pernas e, portanto, essa redistribuição desuniforme de peso tem aumentado os problemas de pernas em frangos (Yalcin et al., 2001). De acordo com Pattison (1992), é importante que a estrutura óssea aumente na mesma proporção que o rendimento de carne, para que as aves apresentem uma boa mobilidade e, conseqüentemente, bom desempenho.

Dentro do setor de carne da indústria avícola, as mudanças no crescimento e desenvolvimento da carcaça de linhagens comerciais têm sido grandes. Quando os frangos são comparados a outras espécies aviárias, o comprimento e o diâmetro relativo dos ossos são considerados menores, o que sugere maiores problemas biomecânicos para esses animais (Lilburn, 1994).

Do ponto de vista econômico, observa-se grande preocupação por parte das empresas com os prejuízos em decorrência das anomalias ósseas que acometem os frangos, pois estas têm contribuído para a redução na produtividade e o aumento da mortalidade, assim como de condenações de carcaças inteiras ou durante o processamento da carne.

Embora vários fatores contribuam para a incidência de anomalias ósseas em frangos, a dieta destaca-se como importante componente que influencia sobre o desenvolvimento do osso, visto que vários nutrientes afetam diretamente o crescimento ósseo. Dentre os fatores nutricionais, alguns têm sido mais estudados por estarem diretamente relacionados com a discondroplasia tibial, entre eles incluem o sódio e o cloro (Murakami et al., 2001; Oviedo-Rondón et al., 2001), a relação cálcio e fósforo, a vitamina D e o ácido ascórbico (Praul et al., 2000).

Os frangos de corte, quando comparados a outros animais domésticos, têm apresentado as maiores taxas de formação óssea e, portanto, são bastante sensíveis às manipulações nutricionais e bioquímicas que afetam os processos de crescimento e desenvolvimento, principalmente, dos ossos longos (Bain & Watkins, 1993).

Vários trabalhos têm relatado que os lipídios presentes nas rações possuem um importante papel no metabolismo ósseo das aves (Watkins et al., 1996, 1997 e 2000; Liu & Denbow, 2001).

De acordo com Liu & Denbow (2001), os ácidos graxos poliinsaturados são estruturais e fisiologicamente importantes para a mineralização e a regulação da modelagem óssea, uma vez que eles servem de substratos para a síntese de diferentes substâncias, chamadas eicosanóides, que estariam envolvidas na regulação local do crescimento e desenvolvimento do osso (Watkins, 1992; Xu et al., 1994; Watkins, 2002).

1.1. Revisão de literatura

1.1.1. Desenvolvimento do tecido ósseo

O osso é um tecido complexo heterogêneo com as seguintes funções: dar suporte à musculatura e, portanto, seu crescimento e desenvolvimento estão intimamente ligados ao crescimento do corpo todo, servir como reserva de cálcio e fósforo que podem ser utilizados durante qualquer distúrbio da homeostase mineral (Loveridge et al., 1992), e proteger os órgãos vitais (Watkins & Seifert, 2000). Considerando a importância dessas funções, muita atenção deve ser dada à taxa de crescimento dos outros componentes corporais das aves sem o aumento compensatório do crescimento do esqueleto, uma vez que pode causar problemas como a fraqueza das pernas e a discondroplasia tibial (Loveridge et al., 1992).

As principais células que compõem o tecido ósseo são: osteoblastos, osteoclastos, osteócitos e as células osteoprogenitoras ou osteogênicas. Embora representem apenas 2% do tecido ósseo, elas são as responsáveis pela sua formação e manutenção ao longo da vida. Os osteoblastos, os osteócitos e as células osteoprogenitoras são responsáveis

pela formação do tecido ósseo, já os osteoclastos pela reabsorção óssea (Pizauro Jr., 2002).

Durante o desenvolvimento dos ossos, dois tipos primários de formação óssea são importantes: a ossificação intramembranosa e a ossificação endocondral, sendo esta última a mais importante via de formação do osso (Howlet, 1980). Os termos endocondral e intramembranoso referem-se aos locais ou ambientes nos quais a formação e a ossificação ocorrem (Pizauro Jr., 2002).

O processo de ossificação intramembranosa é responsável pelo crescimento dos ossos chatos e ocorre com o osso em desenvolvimento pela adição de tecido ósseo na superfície de estruturas pré-existentes. O processo de ossificação endocondral, por sua vez, é responsável pelo crescimento dos ossos longos a partir do tecido cartilaginoso, com o depósito do tecido ósseo em uma espécie de rede de tecido cartilaginoso pré-calcificado. É o processo que determina o crescimento longitudinal dos ossos (Watkins, 2003).

Durante a maturação do tecido ósseo, os condrócitos localizados na diáfise e epífise, hipertrofiam e a matriz localizada ao redor dessas células sofre a mineralização. A invasão dessas regiões pela vascularização sanguínea resulta em centros (diafisário e epifisário) de ossificação. A matriz cartilaginosa mineralizada é então removida pelos condrócitos e substituída por osso pelas células osteogênicas. Estes respectivos centros crescem e expandem-se em direção um do outro, mas permanecem temporariamente separados por uma barreira de cartilagem, a placa de crescimento epifisária que interposta entre as regiões da epífise e diáfise provém um meio de crescimento longitudinal do osso (Watkins & Seifert, 2000).

A placa de crescimento ou disco de crescimento forma uma estreita faixa de ligação entre a epífise e a diáfise, e pode ser dividida nas seguintes regiões anatômicas:

zona de reserva, zona de proliferação, zona de maturação, zona hipertrófica e zona de calcificação (Pizauro Jr, 2002).

A placa de crescimento epifisário dos ossos longos compreende condrócitos e componentes da matriz, das quais o colágeno e os proteoglicanos são os maiores constituintes, sendo responsáveis pela sua integridade estrutural. Cada região da placa de crescimento contém uma mistura de vários tipos de colágenos em diferentes concentrações, sendo o colágeno tipo II a sua principal proteína estrutural (Farquharson et al., 1996). Por outro lado, o colágeno tipo I está amplamente distribuído e é o maior componente do osso (Ali, 1992).

Pode-se afirmar que o tecido ósseo se desenvolve por um período de tempo indefinido. Este processo aparentemente sem fim apresenta dois estágios distintos: o processo de modelagem óssea, que ocorre primeiro e no qual o osso muda em formato, comprimento e largura, sendo responsável por criar o formato do osso; e o processo de remodelagem óssea, no qual envolve a remoção e reestruturação de um osso pré-existente (Watkins et al., 2001). A remodelagem óssea seria, então, responsável pela manutenção da massa e da estrutura óssea em animais adultos (Watkins, 2003).

A modelagem é um processo adaptativo e distinto da remodelagem. O crescimento longitudinal dos ossos longos e a modelagem são regulados por uma complexa interação entre o potencial genético do animal, o ambiente e a nutrição. De uma maneira geral, as muitas lesões que afligem as aves são mais relacionadas às anormalidades na modelagem do que na remodelagem óssea (Watkins, 2003).

De acordo com Pizauro Jr. (2002), morfológicamente, existem duas formas de osso: o cortical ou compacto e o esponjoso, sendo que a diferença entre eles é devido às suas propriedades estrutural e funcional; o osso cortical fornece função mecânica e de proteção, enquanto que o osso esponjoso possui função metabólica.

1.1.2. Ácidos graxos essenciais

O termo gordura (animal ou vegetal) é usado tanto para alimentos destinados aos humanos quanto os ingredientes utilizados na nutrição animal. A adição de gorduras às dietas, além de suplementar energia, aumenta a absorção de vitaminas lipossolúveis, a palatabilidade das rações e a eficiência da energia consumida (baixo incremento calórico) e diminui a pulverulência. Além disso, reduz a taxa de passagem da digesta pelo trato gastrintestinal, o que permite melhor absorção de todos os nutrientes presentes na dieta. Os termos gordura e óleo referem-se a triglicerídeos com vários perfis de ácidos graxos, sendo sólido e líquido, respectivamente, à temperatura ambiente (Baião & Lara, 2005).

Compostos lipídicos são constituídos por ésteres de glicerol que contém dois ácidos graxos além de um outro grupo, como a colina ou a serina. Os mais importantes grupos são os fosfolipídios que contém fosfato em suas estruturas, os glicolipídios que apresentam um carboidrato substituindo um ácido graxo e as lipoproteínas, as quais constituem o principal meio pelo qual os lipídios são transportados no sangue (Leeson & Summers, 2001).

Os lipídios entram no enterócito por simples difusão, entretanto, o transporte intracelular envolve uma proteína (proteína ligadora de ácidos graxos), cuja afinidade é maior para ácidos graxos insaturados e de cadeia longa, quando comparados aos saturados e de cadeia média e curta, respectivamente. Em aves, como o sistema linfático é inexistente, as partículas de gordura são transportadas pelo sistema porta até o fígado onde são metabolizadas (Larbier & Leclercq, 1992).

É importante salientar que a digestibilidade dos óleos e gorduras é dependente de vários fatores: comprimento da cadeia carbônica, número de duplas ligações, a presença

ou ausência de ligações ésteres (triglicerídeos ou ácidos graxos livres), o arranjo específico dos ácidos graxos saturados ou insaturados na ligação com o glicerol, a composição dos ácidos graxos livres e da dieta, o tipo e quantidade de triglicerídeos suplementados na dieta e a idade do animal (Baião & Lara, 2005).

A eficiência de absorção dos lipídios também está relacionada a uma adequada suplementação de sais biliares e um adequado balanço de ácidos graxos insaturados e saturados. Normalmente, lipídios ricos em ácidos graxos insaturados são melhores utilizados por aves mais jovens do que aqueles com maiores concentrações de ácidos graxos saturados (Wiseman, 2005).

Os ácidos graxos ômega 6 e 3 são duas famílias que ocorrem naturalmente derivados do ácido linolêico (18:2n-6) e α -linolênico (18:3n-3), respectivamente, os quais não podem ser sintetizados endogenamente, sendo caracterizados como essenciais para os animais. Os ácidos linolêico e linolênico possuem 18 carbonos em sua cadeia com duas e três duplas ligações, respectivamente. As séries ômega 3 e ômega 6 dos ácidos graxos poliinsaturados são caracterizadas pela posição da primeira dupla ligação: terceiro e sexto carbono, a partir do grupo metil final, respectivamente, para os ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 e 6.

Os ácidos graxos linolêico (18:2n-6) e α -linolênico (18:3n-3) são metabolicamente convertidos em ácidos graxos poliinsaturados no fígado das aves, por meio de processos enzimáticos de insaturação e alongamento da cadeia (Watkins, 2002).

Os ácidos graxos essenciais são metabolizados por uma série de reações que incluem a β -oxidação na mitocôndria para geração de energia, reações de insaturação e alongamento de cadeia que produz os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa e incorporação junto aos glicerolipídios. Nas células animais, o ácido α -linolênico pode

ser convertido no ácido eicosapentaenóico (EPA-20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA-22:6n-3), sendo que da mesma forma, o ácido linoléico é convertido, via γ -linolênico (20:3n-6), em ácido araquidônico (20:4n-6) (Liu, 2000).

As enzimas, chamadas de desaturases e elongases, envolvidas na conversão dos ácidos graxos linoléico e α -linolênico em poliinsaturados de cadeia longa ômega 3 e 6 são as mesmas, resultando em competição metabólica entre os dois grupos. Um excesso de ácido linoléico vai impedir a transformação do α -linolênico em seus derivados EPA e DHA, o mesmo acontecerá no caso contrário, com menor consumo do ácido α -linolênico haverá diminuição da formação do ácido araquidônico. A concorrência entre os ácidos linoléico e α -linolênico está determinada pela afinidade da enzima Δ^6 desaturase por ambos ácidos graxos. Como a enzima tem maior especificidade pelos ácidos graxos ômega 3, precisará de menores quantidades destes ácidos do que dos ômega 6 para produzir a mesma quantidade de produto (Madsem et al., 1999).

Os ácidos graxos essenciais das famílias ômega 3 e 6 são encontrados em algumas espécies de plantas e sementes de oleaginosas como a linhaça, canola, soja, girassol e em óleos de peixes marinhos. O óleo proveniente das sementes oleaginosas, particularmente o óleo de linhaça, é rico em ácido α -linolênico (59% do total de ácidos graxos), precursor dos ácidos graxos da série ômega 3. Uma das principais fontes de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa da série ômega 3 é o pescado, rico nos ácidos graxos EPA e DHA (Sardesai, 1992; Calder, 1998).

Dentre as fontes animais, o óleo de frango vem sendo considerado excelente fonte energética e com grande potencial para ser utilizado nas rações de frangos de corte (Andreotti, 2002).

1.1.3. Influência dos lipídios sobre a formação e o crescimento ósseo

Vários são os fatores envolvidos nas propriedades e no crescimento do tecido ósseo (Watkins, 1992; Yalcin et al., 2001). O crescimento do esqueleto e a modelagem do osso em aves são regulados por uma complexa interação entre o potencial genético do animal, o ambiente e a nutrição (Watkins et al., 2001), além de um grande número de fatores localizados e sistêmicos (Bain & Watkins, 1993).

Entre os nutrientes que influenciam o metabolismo ósseo estão os efeitos do cálcio, fósforo e a vitamina D₃, os quais têm sido bastante estudados. Contudo, recentes pesquisas têm demonstrado que os lipídios possuem importante papel no metabolismo esquelético e na saúde dos ossos (Xu et al., 1994; Liu & Denbow, 2001).

Em trabalhos realizados com pintainhos, os resultados têm demonstrado que o perfil de ácidos graxos dos ossos é um reflexo da composição lipídica da ração ingerida pelos animais (Watkins et al., 1996, 1997 e 2000).

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.

É sabido que o ácido graxo essencial para aves é o linolêico, entretanto o tecido nervoso e a retina mantêm altas concentrações de derivados de α -linolênico, sugerindo a exigência dietética para esse ácido graxo (Watkins, 2002).

O ácido linolêico é importante para a manutenção da integridade e funcionalidade das biomembranas. A concentração do ácido linolêico nos lipídios das membranas pode afetar os receptores celulares, a atividade das enzimas ligadas às membranas e as propriedades de permeabilidade das membranas (Watkins, 2004).

Os ácidos graxos poliinsaturados são fisiologicamente importantes para a mineralização e remodelagem dos ossos (Liu & Denbow, 2001), uma vez que servem de substratos para a biossíntese de uma variedade de componentes chamados eicosanóides (prostaciclina, prostaglandinas, tromboxanos, ácidos hidroxi e hidroperoxi, lipoxinas e leucotrienos) (Watkins, 1992).

As enzimas envolvidas na síntese dos eicosanóides são mantidas nas membranas das células (condrócitos, osteoblastos, monócitos/macrófagos e linfócitos). Primeiramente, fosfolipases ativas liberam o ácido graxo presente na membrana das células. Uma vez livre, o ácido graxo sofre uma transformação oxidativa via ação da enzima cicloxigenase, cujos principais produtos da reação são as prostaglandinas, prostaciclina e os tromboxanos, ou da enzima lipoxigenase, cujos principais produtos são os leucotrienos, as lipoxinas e os ácidos hidroperoxi e hidroxi (Watkins, 2002).

Para a liberação do ácido araquidônico dos fosfolipídios das membranas de osteoblastos e condrócitos, a fosfolipase A₂ quebra a ligação desse ácido graxo com o glicerol na posição 2. O ácido araquidônico é o precursor das prostaglandinas da série 2, enquanto os ácidos 20:3n - 6 e 20:5n - 3 são substratos para síntese das prostaglandinas das séries 1 e 3, respectivamente (Watkins, 2004).

As prostaglandinas são ácidos carboxílicos com 20 carbonos. As letras E e F estão correlacionadas com a solubilidade em éter, ou seja, aquelas solúveis em éter são consideradas da série E, enquanto que as da série F são solúveis na fase aquosa. Os números 1, 2 e 3 referem-se ao número de duplas ligações presentes no lado da cadeia do anel ciclopentano (Sardesai, 1992).

As concentrações dos precursores de eicosanóides como, por exemplo, os ácidos araquidônico e eicosapentaenóico, variam de acordo com a quantidade e os tipos de ácidos graxos poliinsaturados da ração (Watkins et al., 1996). Normalmente, os

precursores das prostaglandinas não se encontram no estado livre, mas ocorrem como fosfolípidios, lípidios neutros e ésteres de colesterol. As membranas fosfolipídicas são ricas em ácidos graxos poliinsaturados, os quais estão preferencialmente localizados na posição do carbono 2 da cadeia do fosfoglicerídeo e servem como um depósito para os ácidos graxos precursores usados na síntese de prostaglandinas (Sardesai, 1992).

De todos os eicosanóides produzidos, as prostaglandinas parecem ser as principais substâncias envolvidas na regulação local do metabolismo ósseo (Watkins, 1992). Os mecanismos envolvidos na regulação da produção de prostaglandinas são: a disponibilidade de substrato e a atividade enzimática (Watkins et al., 2000).

Tanto a formação quanto à reabsorção óssea são influenciadas pela PGE_2 e este efeito sobre o osso pode ser dependente da sua concentração, ou seja, em altas concentrações ela inibe a formação da matriz óssea, entretanto, em baixas concentrações a PGE_2 pode estimular a formação do osso (Watkins et al., 2000; Liu & Denbow, 2001).

Os leucotrienos estão envolvidos com a reabsorção óssea, contudo, seus efeitos são bifásicos, ou seja, em baixas concentrações eles são estimulatórios e em altas concentrações eles previnem a reabsorção (Watkins, 1992). O ácido 20:5n-3 é substrato para a síntese do leucotrieno B_5 , cuja ação é similar a da PGE_2 no osso, ou seja, estimula tanto a formação quanto a reabsorção óssea (Watkins et al., 1997).

Além dos eicosanóides, outras substâncias como os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF'S) e as citocinas parecem influenciar sobre o metabolismo ósseo.

Os IGF'S, também chamados de somatomedinas, estimulam o crescimento e a síntese de DNA, RNA e proteínas das células. Estas substâncias são influenciadas pelo hormônio do crescimento (GH) e a maior parte do IGF circulante encontra-se ligada as proteínas ligadoras de IGF'S (IGFBP). A quantidade de IGF-I e IGF-II produzida pelas

células ósseas é dependente da espécie, sendo que em aves mais IGF-II é produzido pelo tecido esquelético. Os IGF'S (I e II) estimulam a diferenciação dos condrócitos e osteoblastos, a produção de matriz (síntese de colágeno tipo I) e a formação óssea, aumentam a massa óssea e regulam a atividade anabólica dos osteoblastos (Watkins, 1992).

De acordo com Watkins & Seifert (2000), a prostaglandina parece ter influência sobre os IGF'S, visto que estes, uma vez secretados e depositados na matriz óssea, são liberados durante a atividade da reabsorção óssea dos osteoclastos, agindo de forma autócrina ou parácrina para estimular a formação de novas células e a produção de matriz óssea. Portanto, os IGF's juntamente com outros fatores de crescimento apresentam um importante e essencial papel na eficiência com a qual a formação óssea está associada com a reabsorção óssea.

Watkins (2002) descreve que a PGE_2 , quando sintetizada em menor concentração, influencia positivamente o eixo de ligação das proteínas ligadoras de IGF'S (IGFBP) com o IGF-I para promover a formação da cartilagem e do osso.

Cada tipo de ácido graxo dietético influencia sobre a utilização de outros ácidos graxos. Os ácidos graxos poliinsaturados ômega 3, eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), competitivamente inibem a oxigenação do ácido araquidônico pela cicloxigenase. O ácido eicosapentaenóico pode agir como substrato para ação das enzimas cicloxigenase e lipoxigenase, contudo, o mesmo não ocorre para o DHA. Dessa forma, a ingestão de maiores concentrações de óleos ricos em ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3 resulta em redução na incorporação de ácido araquidônico nas membranas e, concomitantemente, menor capacidade de síntese de eicosanóides provenientes desse ácido graxo. Os eicosanóides produzidos pelo ácido eicosapentaenóico são as prostaglandinas e os leucotrienos das séries 3 e 5,

respectivamente, mas, nem sempre essas substâncias têm as mesmas propriedades biológicas do que os seus análogos provenientes do ácido araquidônico (Calder, 1998).

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.

Em trabalhos realizados com pintinhos, Watkins et al. (1996) demonstraram que o enriquecimento da dieta com ácidos graxos ômega 3 e 6 modificou o perfil lipídico do fígado e do osso tibiotarsal das aves, levando a mudanças na produção de eicosanóides, na concentração de IGF-I e conseqüentemente no metabolismo ósseo. Segundo os autores, as aves alimentadas com uma dieta semipurificada que contém óleo de soja, rico em ácidos graxos poliinsaturados ômega 6, apresentaram aumento na produção de PGE_2 na tíbia, o que resultou em menor taxa de formação óssea, quando comparadas com aquelas que receberam uma mistura de óleo de girassol e óleo de peixe, visto que esses ingredientes proporcionaram uma menor razão entre os ácidos graxos ômega 6:ômega 3 na ração.

Resultados semelhantes foram obtidos por Watkins et al. (1997) que observaram diferenças no conteúdo lipídico do osso ao fornecem diferentes fontes de ácidos graxos nas rações de frangos de corte. Segundo os autores, as aves alimentadas com óleo de soja apresentaram maior concentração de 20:4n-6 (precursor da PGE_2) nos fosfolípidios das células ósseas e, conseqüentemente, redução na taxa de formação do osso cortical. Entretanto, os animais que receberam manteiga na alimentação apresentaram menor concentração de 20:4n-6 nos ossos, com conseqüente aumento na taxa de formação do osso trabecular, redução na produção de PGE_2 *in vivo* e aumento na concentração de IGF-I.

A influência dos ácidos graxos sobre a matriz orgânica foi avaliada por Liu et al. (2004), que verificaram menor nível de ligações cruzadas de colágeno e maior concentração de PGE_2 nos ossos de aves alimentadas com óleo de soja. Considerando que as ligações cruzadas de colágeno são degradadas no processo de reabsorção óssea, a PGE_2 pode ter estimulado a reabsorção o que resultou em perda de massa óssea. Os autores verificaram que o conteúdo de cinzas foi independente da concentração de colágeno, mas altamente dependente das ligações cruzadas de colágeno nos ossos das aves alimentadas com óleo de soja.

Liu et al. (2003) afirmam que o efeito dos lipídios sobre a mineralização e o metabolismo ósseo é um processo acumulativo e o fornecimento dietético por um longo período amplifica esse efeito sobre o desenvolvimento do osso em aves. Os autores não encontraram diferenças para o peso, diâmetro e comprimento da tíbia de codornas, porém, a concentração de cinzas, cálcio e fósforo e a resistência da tíbia a quebra foi superior para codornas que consumiram óleo de peixe ou óleo de soja hidrogenado, por um período de quatro semanas a sete meses de idade.

Literatura Citada

- ALI, S.Y. Matrix formation and mineralisation in bone. In: WHITEHEAD, C.C. **Bone biology and skeletal disorders in poultry**. England: Carfax Publishing Company, 1992. p.19-38.
- ANDREOTTI, M.O. **Valor nutricional de diferentes fontes lipídicas para frangos de corte**. 2002. 74 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- BAIÃO, N.C.; LARA L.J.C. Oil and fat in broiler nutrition. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.7, n.3, p.129-141, 2005.
- BAIN, S.D.; WATKINS, B.A. Local modulation of skeletal growth and bone modeling poultry. **Journal of Nutrition**, v.123, n.2, p. 317-322, 1993.
- CALDER, P.C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.31, p.467-490, 1998.
- FARQUHARSON, C.; DUNCAN, A.; SEAWRIGHT, E. et al. Distribution and quantification of pyridinium cross-links of collagen within the different maturational zones of the chick growth plate. **Biochimica and Biophysica Acta**, v.1290, n.3, p.250-256. 1996.
- HOWLET, C.R. The fine structure of the proximal growth plate metaphysis of the avian tibia: endochondral osteogenesis. **Journal of Anatomy**, v.130, p.745-768, 1980.
- LARBIER, M.; LECLERCQ, B. **Nutrition and feeding of poultry**. Leicestershire: Nottingham University Press, 1992. 305p.
- LEESON, S.; SUMMERS J.D. **Nutrition of the chicken**. 4th ed., Ontario: University Books, 2001. 413p.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. Some nutritional implications of leg problems with poultry. **British Veterinary Journal**, v.144, p.81-92. 1988.
- LILBURN, M. Skeletal growth of commercial poultry species. **Poultry Science**, v.73, p.897-903, 1994.
- LIU, D. **The effects of dietary lipids on bone chemical, mechanical, and histological properties in japanese quail (*Coturnix c. japonica*)**. 2000. 148 f. Thesis (Doctor of Philosophy in Animal and Poultry Sciences - Nutrition and Physiology) - Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 2000.

- LIU, D.; DENBOW, D.M. Effects of long-term dietary lipids on matures bone mineral content, collagen, crosslinks, and prostaglandin E₂ production in Japanese quail. **Poultry Science**, v.83, p.1876-1883, 2004.
- LIU, D.; DENBOW, D.M. Maternal dietary lipids modify composition of bone lipids and ex vivo prostaglandin E₂ production in early postnatal Japanese quail. **Poultry Science**, v.80, n.9, p. 1344-1352, 2001.
- LIU, D.; VEIT, H.P.; WILSON, J.H. et al. Long-term supplementation of various dietary lipids alters bone mineral content, mechanical properties and histological characteristics of Japanese quail. **Poultry Science**, v.82, p.831-839, 2003.
- LOVERIDGE, N.; THOMSOM, B.M.; FARQUHARSON, C. Bone growth and turnover. In: WHITEHEAD, C.C. (Ed.). **Bone biology and skeletal disorders in poultry**. England: Carfax Publishing Company, 1992. p.3-18.
- MADSEN, L.; RUSTAN, A.C. et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. **Lipids**, v.34, p.951-963, 1999.
- MURAKAMI, A.; OVIEDO-RONDÓN, E.O.; MARTINS, E.N. et al. Sodium and chloride requirements of growing broiler chickens (twenty-one to forty-two days of age) fed corn-soybean diets. **Poultry Science**. v.80, p.289-294. 2001.
- OVIEDO-RONDÓN E.O.; MURAKAMI, A.E.; FURLAN, A.C. et al. Sodium and chloride requirements of young broiler chickens fed corn-soybean diets (one to twenty-one days of age). **Poultry Science**, v.80, p.592-598. 2001.
- PATTISON, M. Impacts of bone problems on the poultry meat industry. In: WHITEHEAD, C.C. (Ed.). **Bone biology and skeletal disorders in poultry**. England: Carfax Publishing Company, 1992. p.329-338.
- PIZAURO JR., J.M. Estrutura e função do tecido ósseo. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos e corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.247-265.
- PRAUL, C.A.; FORD, B.C.; GAY, C.V.; PINES, M.; LEACH, R.M. Gene expression and tibial discondroplasia. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1009-1013, 2000.
- SARDESAI, V.M. Biochemical and nutritional aspects of eicosanoids. **Journal of Nutrition and Biochemical**, v.3, p.562-579. 1992.
- WATKINS, B.A. **Essential fatty acids in poultry nutrition: their importance, metabolic and physiological significance and feeding considerations**. Disponível em: <www.novusint.com/Public/Library/DocViewer.asp?ID=94>. Acesso em: 14 set. 2004.
- 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, 1992. p.67-86.
- 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. **Longitudinal growth and modeling of bone**. Disponível em <http://www.novusint.com/Public/Library/Techpaper.asp?ID=9ift.confex.com/ift/200/techprogram/paper_4941.htm>. Acesso em: 12 fev. 2003.
- WATKINS, B.A. **Role of lipids and phytochemicals in bone health**. Disponível em <http://www.ift.confex.com/ift/200/techprogram/paper_4941.htm>. Acesso em: 10 out. 2002.
- WATKINS, B.A.; SHEN, C.; ALLEN, K.G.D. et al. Dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated and acetylsalicylic acid alter *ex vivo* PGE₂ biosynthesis, tissue IGF-I levels, and bone morphometry in chicks. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.11, n.9, p.1321-1332, 1996.
- WATKINS, B.A.; SHEN, C.; McMURTRY, J.P. et al. Dietary lipids modulate bone prostaglandin E₂ production, insulin-like growth factor – I concentration and formation rate in chicks. **Journal of Nutrition**, v.127, n.6, p.1084-1091. 1997.
- WATKINS, B.A.; LIPPMAN, H.E.; Le BOUTELLER, L. et al. Bioactive fatty acids: role in bone biology and bone cell function. **Progress in Lipid Research**, v.40, p.125-148. 2001.
- WATKINS, B.A.; SEIFERT, F. Conjugated linoleic acid and bone biology. **Journal of American College of Nutrition**, v.19, n.4, p. 478S-486S, 2000.
- WISEMAN, J. **Full fat soya, oils and fats in poultry nutrition**. Disponível em <www.asa-europe.org/pdf/ffsoyaoil.pdf>. Acesso em: 6 nov. 2005.
- 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.
- YALCIN, S.; ÖZKAN, S.; COSKUNER, E. et al. Effects of strain, maternal age and sex on morphological characteristics and composition of tibial bone in broilers. **British Poultry Science**, v.42, n.2, p.184-190, 2001.

II – OBJETIVOS GERAIS

Avaliar se a utilização de diferentes fontes de óleos nas rações, enriquecidas com precursores dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 e 6, influenciará a formação e o desenvolvimento ósseo de frangos de corte.

2.1. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito de diferentes fontes de óleo sobre o perfil lipídico, os parâmetros de crescimento e qualidade óssea, a concentração de minerais (cinzas) e a produção de PGE₂ em tíbias e fêmures de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade.

- Avaliar o efeito do óleo de linhaça nas rações, em diferentes níveis de inclusão, sobre o perfil lipídico, os parâmetros de crescimento e qualidade óssea, a concentração de minerais (cinzas) e a produção de PGE₂ em tíbias e fêmures de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade.

III – Efeito da Adição de Diferentes Fontes de Óleo nas Rações sobre o Desempenho, os Parâmetros e a Composição Mineral Óssea em Frangos de Corte

RESUMO – O objetivo desse trabalho foi avaliar o desempenho, os parâmetros ósseos e a composição mineral de tíbias e fêmures de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade. Na fase inicial (1 a 21 dias), foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições e 50 aves/unidade experimental, em que as aves receberam rações formuladas com diferentes fontes de óleo: soja (OS), girassol (OG), canola (OC), linhaça (OL) e vísceras (OV). Na fase de crescimento (22 a 42 dias) cada tratamento utilizado na fase inicial foi desmembrado em dois tratamentos, de modo que um grupo de aves continuou a receber a mesma fonte de óleo utilizada na fase anterior e outro grupo passou a receber OS na dieta. Portanto, nessa fase foram utilizados nove tratamentos, três repetições e 44 aves/unidade experimental, também em um delineamento inteiramente casualizado. No período de 1 a 7 dias de idade, observou-se efeito positivo ($P < 0,05$) da adição de OL sobre o ganho de peso e o peso médio final das aves, quando comparadas àquelas que receberam OS na ração. Nos períodos de 1 a 14 dias e 1 a 21 dias e de crescimento não foi verificado efeito ($P > 0,05$) entre os diferentes tratamentos sobre o desempenho das aves. Não houve diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos para os parâmetros ósseos, entretanto, essas variáveis foram influenciadas ($P < 0,05$) pela idade. No período inicial, a concentração de cinzas (g e %) foi superior ($P < 0,05$) para as aves que receberam OL na ração, contudo, esse efeito não foi observado ($P > 0,05$) na fase de crescimento. Conclui-se que uso de OL em rações para frangos de corte foi benéfico para o desempenho e a mineralização óssea na fase inicial de criação.

Palavras-chave: cinzas, comprimento, densidade mineral, diâmetro, índice de Seedor, resistência

Addition Effect of Different Oil Sources in Diets on Performance, Bone Parameters and Mineral Composition of Broilers

ABSTRACT – This work was conducted to evaluate the performance, bone parameters and mineral composition in tibia and femur of broiler chickens, from 1 to 42 days of age phase. In starting phase (1 to 21 days) a completely randomized design was used with five treatments, six replicates and 50 birds per experimental unit, where the birds received diets formulated with different oil sources: soybean (SO), sunflower (SNO), rapeseed (RO), linseed (LO) and poultry offal (PO). For growing phase (22 to 42 days) each treatment used in starting phase was divided in two treatments, so that a group of birds continued to receive the same oil source used in previous phase and other group started to receive SO in diet. Therefore, in this phase nine treatments, three replicates and 44 birds per experimental unit were used, also in a completely randomized design. At the period of 1 to 7 days of age, it was observed a positive effect ($P<0.05$) with LO addition on weight gain and final weight of birds when compared to those received SO. At 1 to 14 days, 1 to 21 days and growing phases no effects ($P>0.05$) were observed among different treatments on broilers performance. No difference was detected among treatments ($P>0.05$) for bones parameters, however, these variables were affected ($P<0.05$) by birds aging. At starting phase, the ash concentration (g and %) was higher ($P<0.05$) to birds that received LO in diets, however, this effect was not observed ($P>0.05$) in growing phase. It was concluded that LO use in diets for broilers was beneficial for performance and bone mineralization in starting phase.

Key words: ash, diameter, length, mineral density, Seedor index, strength

Introdução

A constante busca por melhoria na qualidade dos produtos de origem animal, tornou a indústria avícola brasileira uma das mais tecnificadas e competitivas do mundo. Dentro desse contexto, o aumento no potencial genético aliado à nutrição, ao manejo e à sanidade permitiu que a avicultura alcançasse índices produtivos inimagináveis. Atualmente, o aumento no consumo pela população não só de aves inteiras, mas, principalmente, de cortes e produtos industrializados, tem proporcionado maior interesse da indústria na composição e qualidade da carcaça, especialmente em termos de produção e composição da carne.

Na hierarquia do crescimento dos tecidos, em determinado momento (idade), a prioridade é do tecido ósseo ou do muscular ou do adiposo. Assim, em cada fase de desenvolvimento, há necessidade específica de afluxo de nutrientes para o tecido em crescimento prioritário (Gonzales & Sartori, 2002).

Durante muitos anos, a seleção para uma maior taxa de crescimento tem acarretado um maior aumento no peso dos músculos do peito quando comparado aos músculos e ossos das pernas (Lilburn, 1994). De acordo com Pattison (1992), é importante que a estrutura óssea aumente na mesma proporção que o rendimento de carne, para que as aves apresentem boa mobilidade e, conseqüentemente, bom desempenho. Entretanto, os avanços no desempenho e na produção têm sido acompanhados da presença de anomalias no tecido esquelético, principalmente em ossos longos (Lilburn, 1994).

Os problemas ósseos e as infecções associadas têm contribuído para uma maior taxa de mortalidade, baixa produtividade e aumento nas condenações das carcaças. Aves em idade de abate que sofrem de problemas relacionados à fragilidade e

deformidades ósseas podem apresentar fraturas durante a apanha e o transporte, levando a perdas durante o processamento no abatedouro.

Segundo Rath et al. (2000), a fragilidade e a porosidade óssea também estão correlacionadas com a incidência de fragmentos de ossos em produtos desossados e com a descoloração da carne adjacente ao osso devido à perda de sangue, tornando o produto final menos apreciado pelo consumidor.

Os ácidos graxos, principalmente os poliinsaturados, possuem um importante papel no metabolismo do esqueleto e na saúde óssea, visto que servem de substrato na síntese de metabólitos (prostaglandinas) (Xu et al., 1994). As concentrações dos precursores de eicosanóides como, por exemplo, os ácidos araquidônico e eicosapentaenóico, variam de acordo com a quantidade e os tipos de ácidos graxos poliinsaturados da ração (Watkins et al., 1996).

De todos os eicosanóides produzidos a prostaglandina da série E₂ (PGE₂), produzida a partir do ácido araquidônico, parece ser a principal substância envolvida na regulação local do metabolismo ósseo (Watkins, 1992), entretanto, seu efeito parece ser dose dependente, ou seja, em altas concentrações ela inibe a formação da matriz óssea e em baixas concentrações pode estimular a formação do osso (Watkins et al., 2000; Liu & Denbow, 2001).

Considerando que o requisito nutricional em energia dos frangos de corte é alto, muitas vezes há necessidade de acréscimos de óleo vegetal ou gordura animal às dietas. Os óleos vegetais apresentam alta digestibilidade e, dependendo de sua composição em ácidos graxos, são facilmente absorvidos no intestino, sendo importantes fontes de ácidos graxos essenciais, além de servirem como veículo na absorção das vitaminas lipossolúveis (Dell'Isola et al., 2003).

Nos animais monogástricos um aspecto particular que diferencia as gorduras dos outros nutrientes é que o perfil lipídico dos tecidos corporais é reflexo da composição lipídica da dieta e, conseqüentemente, dos ácidos graxos, conforme estudos realizados com aves por Watkins et al. (1996, 1997 e 2000) e Liu et al. (2003b).

Com base nessas considerações, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da adição de diferentes fontes de óleo na ração sobre o desempenho e os parâmetros de qualidade e crescimento ósseo de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá – UEM. Foram utilizados 1500 pintos de um dia de idade (peso médio de 45g), machos, da linhagem Cobb[®]. As aves foram alojadas em um galpão convencional dividido em boxes de 6,3 m² com cobertura de telha francesa e lanternin, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com tela de arame até o telhado, providas de cortinas laterais. Foi utilizada cama do tipo maravalha sobre o piso.

Na fase inicial foram utilizados comedouros do tipo bandeja e bebedouros do tipo copo de pressão até o quinto dia de idade, sendo os comedouros substituídos gradativamente pelos comedouros tubulares e bebedouros automáticos do tipo pendular. Em cada boxe foram utilizados um círculo de proteção e uma campânula como fonte de aquecimento para os pintainhos. Água e ração foram fornecidas à vontade em um programa de alimentação dividido em duas fases, sendo a inicial do 1º aos 21 dias de idade, e a de crescimento, dos 22 a 42 dias de idade.

Foi adotado um programa de luz contínuo durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23 horas de luz/dia. As temperaturas médias

dentro do galpão foram: máxima de $26,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, mínima de $19,9 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa média de $53,8 \pm 10,0\%$.

As aves receberam rações formuladas com diferentes fontes de óleo, a saber: óleo de soja, girassol, canola, linhaça e frango, na fase inicial (1 a 21 dias). Na fase de crescimento (22 a 42 dias) cada tratamento utilizado na fase inicial foi desmembrado em dois tratamentos, de modo que um grupo de aves continuou a receber a mesma fonte de óleo utilizada na fase anterior e outro grupo passou a receber óleo de soja na dieta.

Dessa forma, na fase inicial (1 a 21 dias de idade) foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições com 50 aves/unidade experimental. Já na fase de crescimento (22 a 42 dias de idade), foram utilizados nove tratamentos, com três repetições e 44 aves/ unidade experimental (considerando as aves sacrificadas na fase inicial), também em um delineamento inteiramente casualizado, conforme descrito a seguir:

A – óleo de soja (1 a 42 dias de idade);

B – óleo de girassol (1 a 42 dias de idade);

C – óleo de canola (1 a 42 dias de idade);

D – óleo de linhaça (1 a 42 dias de idade);

E – óleo de frango (1 a 42 dias de idade);

F – óleo de girassol (1 a 21 dias de idade) e óleo de soja (22 a 42 dias de idade);

G – óleo de canola (1 a 21 dias de idade) e óleo de soja (22 a 42 dias de idade);

H – óleo de linhaça (1 a 21 dias de idade) e óleo de soja (22 a 42 dias de idade);

I – óleo de frango (1 a 21 dias de idade) e óleo de soja (22 a 42 dias de idade).

As rações experimentais foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais para as fases: inicial (1-21 dias de idade) e de crescimento (22-42 dias de idade), de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005), de forma a serem

isoenergéticas, isoaminoacídicas, isocálcicas e isofosfóricas. As composições percentual e calculada das rações experimentais encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

Foram avaliados o desempenho zootécnico (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar) e os parâmetros relativos dos ossos: comprimento, diâmetro, peso e Índice de Seedor, densitometria óptica radiográfica, resistência óssea e concentração de minerais (cinzas) nos ossos.

Para avaliação de desempenho as rações e as aves foram pesadas no início do experimento, aos 7, 14, 21 e 42 dias de idade.

Para avaliação dos parâmetros ósseos, após o sacrifício por meio de atordoamento seguido de sangria (aprovado pelo Comitê de Ética Animal – Registro N°069/2003), foram coletados os fêmures e as tíbias esquerdas de duas aves/repetição aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade. As amostras ficaram congeladas (-18° C) até o início das análises dos parâmetros ósseos, que foram executadas conforme descrito a seguir.

Índice de seedor

Após o descongelamento dos ossos, foram retirados os tecidos envolventes (tecido muscular aderido) com auxílio de tesouras e pinças.

Os ossos frescos foram pesados em balança analítica ($g \pm 0,0001$) e o comprimento e o diâmetro (na porção média do osso) foram medidos usando paquímetro eletrônico digital (capacidade de 0 a 150 mm e resolução de 0,01 mm).

TABELA 1. Composições percentual e calculada das rações experimentais (1-21 dias)
 Table 1. Percentual and calculated compositions of experimental diets (1-21 days)

Ingredientes <i>Ingredients</i>	Fontes de óleo <i>Oil Sources</i>				
	Soja <i>Soybean</i>	Canola <i>Rapessed</i>	Girassol <i>Sunflower</i>	Linhaça <i>Linseed</i>	Frango <i>Poultry Offal</i>
Milho, grão <i>Corn grain</i>	61,61	61,49	61,62	61,57	61,52
Farelo de soja, 45% <i>Soybean meal, 45%</i>	31,31	31,43	31,30	31,35	31,40
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	1,89	1,89	1,89	1,89	1,89
Calcário <i>Limestone</i>	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01
Óleo <i>Oil</i>	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Sal comum <i>Salt</i>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-metionina, 98% <i>DL-methionine, 98%</i>	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
L-lisina HCl, 78% <i>L-Lysine HCl, 78%</i>	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Suplemento mineral ¹ <i>Mineral Supplement</i>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. vitamínico ² <i>Vitamin supplement</i>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT <i>BHT</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados <i>Calculated values</i>					
PB (%) <i>Crude protein (%)</i>	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
EMA (kcal/kg) <i>Metabolizable energy (kcal/kg)</i>	3.050	3.050	3.050	3.050	3.050
Met + Cis (%) <i>Methionine + cistine (%)</i>	0,912	0,912	0,912	0,912	0,912
Lisina (%) <i>Lysine (%)</i>	1,284	1,284	1,284	1,284	1,284
Cálcio (%) <i>Calcium (%)</i>	0,976	0,976	0,976	0,976	0,976
Fósforo disponível(%) <i>Available Phosphorus (%)</i>	0,458	0,458	0,458	0,458	0,458
Extrato etéreo (%) <i>Ether extract (%)</i>	5,540	5,540	5,540	5,540	5,540
Sódio (%) <i>Sodium (%)</i>	0,199	0,199	0,199	0,199	0,199

¹ Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

¹ Mineral Supplement (Content per kg of premix): Iron 100,000 mg; Copper 16,000 mg; Iodine 2,400 mg; Zinc 100,000 mg; Manganese 140,000 mg; Selenium 400 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g

² Suplemento Vitamínico Inicial ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 7.000.000 UI; Vit. D3 2.200.000 UI; Vit.E 11.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 2.000 mg; Vit. B2 5.000 mg; Vit. B12 12.000 mcg; Vit. B6 3.000 mg; Niacina 35.000 mg; Ácido Pantotênico 13.000 mg; Ácido Fólico 800 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

² Starting Mineral Supplement (Content per kg of premix): Vit. A 7,000,000 UI; Vit. D3 2,200,000 UI; Vit.E 11,000 mg; Vit. K3 1,600 mg; Vit. B1 2,000 mg; Vit. B2 5,000 mg; Vit. B12 12,000 mcg; Vit. B6 3,000 mg; Niacin 35,000 mg; Pantotenic Ácid 13,000 mg; Folic Acid 800 mg; Antioxidant 100,000 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g.

TABELA 2. Composições percentual e calculada das rações experimentais (22-42 dias)
 Table 2. Percentual and calculated compositions of experimental diets (22-42 days)

Ingredientes <i>Ingredients</i>	Fontes de óleo <i>Oil Sources</i>				
	Soja <i>Soybean</i>	Canola <i>Rapessed</i>	Girassol <i>Sunflower</i>	Linhaça <i>Linseed</i>	Frango <i>Poultry Offal</i>
Milho, grão <i>Corn grain</i>	63,58	63,42	63,59	63,53	63,46
Farelo de soja, 45% <i>Soybean meal, 45%</i>	28,92	29,08	28,91	28,97	29,04
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59
Calcário <i>Limestone</i>	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92
Óleo <i>Oil</i>	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Sal comum <i>Salt</i>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-metionina, 98% <i>DL-methionine, 98%</i>	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
L-lisina HCl, 78% <i>L-Lysine HCl, 78%</i>	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Suplemento mineral ¹ <i>Mineral Supplement</i>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. vitamínico ² <i>Vitamin Supplement</i>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT <i>BHT</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados <i>Calculated values</i>					
PB (%) <i>Crude protein (%)</i>	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00
EMA (kcal/kg) <i>Metabolizable energy (kcal/kg)</i>	3.150	3.150	3.150	3.150	3.150
Met + Cis (%) <i>Methionine + cistine (%)</i>	0,811	0,811	0,811	0,811	0,811
Lisina (%) <i>Lysine (%)</i>	1,138	1,138	1,138	1,138	1,138
Cálcio (%) <i>Calcium (%)</i>	0,860	0,860	0,860	0,860	0,860
Fósforo disponível(%) <i>Available phosphorus (%)</i>	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Extrato etéreo (%) <i>Ether extract (%)</i>	6,990	6,990	6,990	6,990	6,990
Sódio (%) <i>Sodium (%)</i>	0,197	0,198	0,198	0,198	0,198

¹ Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

¹ Mineral Supplement (Content per kg of premix): Iron 100,000 mg; Copper 16,000 mg; Iodine 2,400 mg; Zinc 100,000 mg; Manganese 40,000 mg; Selenium 400 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g

² Suplemento Vitamínico Crescimento ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 6.000.000 UI; Vit. D3 2.000.000 UI; Vit.E 10.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 1.400 mg; Vit. B2 4.000 mg; Vit. B12 10.000 mcg; Vit. B6 2.000 mg; Niacina 30.000 mg; Ácido Pantotênico 11.000 mg; Ácido Fólico 600 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

² Growth Mineral Supplement (Content per kg of premix): Vit. A 6,000,000 UI; Vit. D3 2,000,000 UI; Vit.E 10,000 mg; Vit. K3 1,000 mg; Vit. B1 1,400 mg; Vit. B2 4,000 mg; Vit. B12 10,000 mcg; Vit. B6 2,000 mg; Niacin 30,000 mg; Pantotenic Acid 11,000 mg; Folic Acid 600 mg; Antioxidant 100,000 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g.

Usando o peso do osso e seu comprimento foi calculado o Índice de Seedor (Seedor et al., 1991) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Seedor} = \frac{\text{peso do osso (mg)}}{\text{comprimento do osso (mm)}}$$

Este índice é utilizado como um indicativo da densidade óssea. Quanto maior o Índice de Seedor maior a densidade da peça óssea e vice-versa.

Densitometria óssea radiográfica

Apenas os fêmures esquerdos foram utilizados na determinação da densitometria óssea radiográfica (densidade mineral óssea). As análises radiográficas foram realizadas na Clínica de Odontologia do Hospital Universitário de Maringá.

Em uma primeira etapa as peças ósseas limpas (sem tecidos envolventes) foram colocadas sob o filme fotográfico (marca Kodak Insight®, size 2 IP-21, tipo periapical), todas na mesma posição, e então radiografadas utilizando-se um aparelho de raio-X da marca DABI®, modelo Atlanti-Spectro 70x, calibrado, com distância foco-filme de 45 cm, ajustado para 70kVp, 8mAs e tempo de exposição de três segundos. Estes valores de tensão, corrente e tempo de exposição foram considerados ideais após análises prévias. Após a obtenção das radiografias, as mesmas foram processadas em uma reveladora automática marca Avi Techiques Inc.®, modelo Peri-Pro maintenace, utilizando-se um tempo de processamento de seis minutos para revelação e fixação.

Em uma segunda etapa, as radiografias foram digitalizadas utilizando-se um scanner marca HP-Scan Jet, modelo 4 CTT, com tampa de transparência acoplada, por

meio do software HP Deskscan, com resolução de 2400 DPI (“Dots Per Inch”=pontos por polegada) e gravadas em arquivo com extensão JPG.

A terceira etapa se constituiu na leitura das radiografias para a determinação da densidade das peças ósseas. Para isso foi utilizada a ferramenta histograma do software Adobe Photoshop 8.0, que permite a delimitação da área específica a ser analisada e determina a intensidade de cores (que possui 256 tons, onde o valor zero representa o preto e o valor 256 representa o branco) em valores de escala de cinza. Como referencial radiográfico, nas tomadas radiográficas, utilizou-se uma escada de alumínio (penetrômetro de alumínio) de 10 degraus com 1 mm de espessura entre um degrau e outro. As leituras densitométricas foram realizadas em cinco pontos na região central da imagem radiográfica, de maneira a obter um valor médio que melhor representasse a amostra, devido a não homogeneidade do tecido ósseo. Da mesma forma, foram realizadas cinco leituras em cada degrau da escada de alumínio.

Os dados obtidos em valores de cinza foram convertidos em valores relativos à espessura da escada de alumínio. Para a conversão foi realizada a setorização da curva densitométrica característica. Em cada radiografia era estabelecido este setor por meio da escolha de três degraus da escada de alumínio, cujos respectivos valores de escala de cinza limitavam a região de estudo previamente determinada no osso. Esses degraus que determinavam o setor a ser analisado, com suas respectivas espessuras, eram especificados no programa computacional Excel[®] que, a seguir, fornecia a expressão matemática que melhor se ajustava aos pontos experimentais contidos neste intervalo. Por meio das expressões matemáticas obtidas os dados eram convertidos em milímetros de alumínio (mmAL), valores esses que indicavam a densidade mineral óssea. Quanto maior o valor obtido, maior a radiopacidade e, conseqüentemente, maior a densidade.

Resistência óssea

O ensaio para a determinação da resistência óssea foi realizado no Laboratório de Equipamentos Odontológicos do Departamento de Odontologia da Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Araçatuba.

Para a determinação da resistência óssea os fêmures esquerdos foram previamente preparados, sendo colocados em água fervente e, após a retirada do tecido muscular aderido, os mesmos foram mergulhados em éter por 24 horas para serem desengordurados e secos em estufa de ventilação forçada a 55° C por 72 horas.

As análises de resistência foram realizadas em uma máquina universal de ensaios mecânicos, marca EMIC® - modelo DL3000, sendo os dados coletados por um computador diretamente da máquina por meio do Programa Computacional Tesc® e os valores expressos em Newton (N). As peças ósseas foram posicionadas em apoios da região das epífises, ficando as mesmas sem apoio na região central. A posição escolhida foi a antero-posterior para evitar que ossos se deslocassem no momento da quebra. A força foi aplicada na região central, sempre no mesmo ponto em todos os ossos. A velocidade de descida da sonda/ aplicação da força foi a mesma (5 mm/s) para todos os ossos, sendo mensurada a força aplicada no momento anterior à ruptura do osso. A carga utilizada foi de 200 kgf (\cong 1974 N) para todas as amostras, entretanto, as distâncias entre os apoios foram de 20, 25, 35, 40, 45 e 55 mm, para os ossos de 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias, respectivamente.

Composição mineral

Após o ensaio para a determinação da resistência óssea, os fêmures esquerdos foram preparados para a determinação do teor de minerais, no Laboratório de Análises

de Alimentos – LANA, da Universidade Estadual de Maringá. Para isso, os ossos previamente secos (estufa de ventilação forçada) foram triturados, pesados em balança analítica (0,0001g), secos em estufa a 105°C por 12 horas, pesados após resfriamento e calcinados em mufla a 600° C por 24 horas, para obtenção das cinzas.

As análises estatísticas dos parâmetros ósseos: comprimento, diâmetro, peso, Índice de Seedor, densitometria óptica radiográfica e resistência óssea foram efetuadas por meio da metodologia de modelos lineares generalizados (Nelder & Wedderburn, 1972), admitindo distribuição gama com função de ligação recíproca e um modelo que considerou os efeitos de tratamento, idade e as interações tratamento x idade. Os efeitos da idade também foram analisados por meio de regressão polinomial. Para testar os efeitos de tratamento foi usado o teste T, em nível de 5% de probabilidade.

Para as variáveis de desempenho e a concentração de minerais foi admitida à distribuição normal e as análises foram feitas dentro de cada idade testando as diferenças entre as médias por meio do Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Desempenho

Os resultados de desempenho são apresentados nas Tabelas 3 e 4.

No período de 1 a 7 dias de idade, não foram verificadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos para o consumo de ração e a conversão alimentar, entretanto, a adição de óleo de linhaça melhorou ($P < 0,05$) o ganho de peso e o peso médio final das aves quando comparadas àquelas que receberam óleo de soja na ração. Essa diferença, contudo, não foi observada para as outras fontes de óleo estudadas.

TABELA 3. Valores médios (\pm erro-padrão) referentes às características de desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de óleos no período inicial (1-21 dias de idade)

Table 3. Means (\pm standard error) of broilers performance characteristics fed with different oils sources at starting phase (1 to 21 days of age)

Tratamentos <i>Treatments</i>	Consumo de ração (g/ave) <i>Feed intake (g/bird)</i>	Ganho de peso (g) <i>Weight gain (g)</i>	Conversão alimentar (g/g) <i>Feed:gain (g/g)</i>	Peso final (g) <i>Finish weight (g)</i>
1 a 7 dias <i>1 to 7 days</i>				
Óleo de soja (1-21 dias) <i>Soybean Oil</i>	141,53 \pm 1,54	122,62 \pm 1,10 ^b	1,154 \pm 0,009	167,84 \pm 1,20 ^b
Óleo de girassol (1-21 dias) <i>Sunflower Oil</i>	145,38 \pm 1,36	127,21 \pm 1,72 ^{ab}	1,143 \pm 0,007	172,87 \pm 1,68 ^{ab}
Óleo de canola (1-21 dias) <i>Rapeseed Oil</i>	146,55 \pm 0,83	128,47 \pm 1,32 ^{ab}	1,141 \pm 0,008	174,24 \pm 1,25 ^{ab}
Óleo de linhaça (1-21 dias) <i>Linseed Oil</i>	149,42 \pm 2,44	132,42 \pm 2,97 ^a	1,129 \pm 0,011	178,25 \pm 2,83 ^a
Óleo de vísceras (1-21 dias) <i>Poultry Offal Oil</i>	145,17 \pm 1,97	127,15 \pm 2,40 ^{ab}	1,142 \pm 0,008	172,53 \pm 2,30 ^{ab}
CV (%)	2,89	3,89	1,96	2,77
1 a 14 dias <i>1 to 14 days</i>				
Óleo de soja (1-21 dias) <i>Soybean Oil</i>	491,62 \pm 13,50	371,85 \pm 8,86	1,322 \pm 0,014	417,07 \pm 8,95
Óleo de girassol (1-21 dias) <i>Sunflower Oil</i>	500,99 \pm 7,52	385,05 \pm 7,76	1,302 \pm 0,008	430,70 \pm 7,71
Óleo de canola (1-21 dias) <i>Rapeseed Oil</i>	504,91 \pm 8,60	384,89 \pm 8,03	1,312 \pm 0,006	430,67 \pm 8,12
Óleo de linhaça (1-21 dias) <i>Linseed Oil</i>	517,77 \pm 9,32	398,83 \pm 8,80	1,299 \pm 0,019	444,66 \pm 8,86
Óleo de vísceras (1-21 dias) <i>Poultry Offal Oil</i>	506,63 \pm 11,70	391,91 \pm 10,86	1,294 \pm 0,009	437,30 \pm 10,75
CV (%)	491,62 \pm 13,50	371,85 \pm 8,86	1,322 \pm 0,014	417,07 \pm 8,95
1 a 21 dias <i>1 to 21 days</i>				
Óleo de soja (1-21 dias) <i>Soybean Oil</i>	1046,62 \pm 25,28	736,64 \pm 16,90	1,421 \pm 0,006	781,85 \pm 16,98
Óleo de girassol (1-21 dias) <i>Sunflower Oil</i>	1077,36 \pm 16,92	758,49 \pm 15,70	1,421 \pm 0,008	804,14 \pm 15,69
Óleo de canola (1-21 dias) <i>Rapeseed Oil</i>	1100,15 \pm 12,11	775,73 \pm 9,53	1,418 \pm 0,007	821,50 \pm 9,62
Óleo de linhaça (1-21 dias) <i>Linseed Oil</i>	1119,12 \pm 14,62	795,85 \pm 13,08	1,407 \pm 0,011	842,18 \pm 13,26
Óleo de vísceras (1-21 dias) <i>Poultry Offal Oil</i>	1109,41 \pm 24,17	780,66 \pm 16,22	1,421 \pm 0,005	826,05 \pm 16,16
CV (%)	4,34	4,63	1,35	4,38

^{a, b, c} Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem pelo Teste de Tukey (P<0,05).

^{a, b, c} Means following by different letters, in same column, differs by Tukey Test (P<0.05)

É sabido que na ave jovem, a absorção de gordura é limitada e apenas quando a estrutura do enterócito alcança seu pleno desenvolvimento é que a absorção de lipídios se efetiva. Considerando as fontes de óleo e o fato das rações utilizadas serem isoenergéticas, os resultados obtidos no período de 1 a 7 dias, possivelmente, estão

relacionados com o perfil de ácidos graxos do óleo de linhaça, visto que o mesmo possui altas concentrações de ácido α -linolênico (18:3n-3), caracterizado por uma estrutura química propícia, ou seja, alto grau de insaturação, para melhor absorção intestinal, o que resultou em melhor desempenho das aves na primeira semana de vida, em que o sistema digestório ainda se encontra em desenvolvimento.

Essa afirmação é justificada pelo fato de que a absorção total de ácidos graxos da dieta é maior quando oferecida sob a forma de triglicerídeos do que quando monômeros; da mesma forma, a absorção dos ácidos graxos linolêico e linolênico é maior (85% a 92%), assim como os insaturados e de cadeia longa quando comparados aos saturados (Furlan & Macari, 2002). Isto se dá porque as micelas são hábeis em solubilizar grandes quantidades de ácidos graxos de baixa polaridade, como os ácidos graxos insaturados de cadeia longa (Ferreira, 1999).

Embora os resultados tenham evidenciado melhorias em algumas características na primeira semana de vida, não foram verificadas diferenças ($P>0,05$) para as características de desempenho avaliadas nos períodos de 1 a 14 dias e de 1 a 21 dias de idade. Considerando que em frangos de corte há aumento na ingestão e suficiente atividade enzimática e de sais biliares para hidrólise e absorção de gorduras a partir dos quatro dias de idade, conforme relatado por Noy & Sklan (1995), possivelmente, apenas as diferenças existentes entre as características químicas dos ácidos graxos que compõem as fontes de óleo utilizadas não tenham sido suficientes para prover efeito sobre o desempenho, visto que, nos períodos de 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade, as aves já se encontram aptas em aproveitar eficientemente os diferentes lipídios contidos na ração quando comparados à primeira semana.

Esses resultados corroboram os realizados por Xu et al. (1994) e Watkins et al. (1996) que não encontraram efeito de diferentes fontes de óleo sobre o crescimento de

frangos durante a fase inicial. Por outro lado, Gaiotto (2004) observou piora no ganho de peso de frangos de corte que receberam óleo de soja na ração aos 7, 14 e 21 dias de idade.

Nos períodos de 22 a 42 dias e de 1 a 42 dias de idade (Tabela 4), o desempenho dos frangos não foi influenciado ($P>0,05$) pela adição de diferentes fontes de óleo às rações. Esse resultado era esperado, considerando que os óleos adicionados às rações apresentaram valores de energia metabolizável semelhantes demonstrando que, nessas fases, o valor energético das rações tem grande influência sobre essas características.

Esses resultados estão de acordo com os reportados por Watkins et al. (1991) e Crespo & Esteve-Garcia (2002) que não verificaram efeitos positivos no desenvolvimento de frangos de corte que receberam diferentes fontes de óleo na alimentação, no período de crescimento. Da mesma forma, Ferrer et al. (2003) não relataram diferenças sobre as características de desempenho de frangos alimentados com óleos de linhaça e de girassol, no período de 14 a 28 dias de idade. Contudo, Gaiotto et al. (2000), ao adicionarem óleo de soja e sebo bovino às dietas de crescimento, encontraram melhores resultados para as aves que consumiram óleo de soja.

TABELA 4. Valores médios (\pm erro-padrão) referentes às características de desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de óleos nos períodos de crescimento e total (22 a 42 dias e 1 a 42 dias de idade)

Table 4. Means (\pm standard error) of broilers performance characteristics fed with different oils sources at total and growing phase (22 to 42 days and 1 to 42 days of age)

Tratamentos <i>Treatments</i>	Consumo de ração (g/ave) <i>Feed intake (g/bird)</i>	Ganho de peso (g) <i>Weight gain (g)</i>	Conversão alimentar (g/g) <i>Feed:gain (g/g)</i>	Peso final (g) <i>Finish weight (g)</i>
22 a 42 dias <i>22 to 42 days</i>				
Óleo de soja (1-42 dias) <i>Soybean Oil</i>	3247,90 \pm 27,14	1810,00 \pm 23,51	1,795 \pm 0,012	-
Óleo de girassol (1-42 dias) <i>Sunflower Oil</i>	3216,74 \pm 50,71	1785,10 \pm 31,45	1,802 \pm 0,017	-
Óleo de canola (1-42 dias) <i>Rapeseed Oil</i>	3276,46 \pm 27,62	1789,70 \pm 2,87	1,831 \pm 0,014	-
Óleo de linhaça (1-42 dias) <i>Linseed Oil</i>	3212,10 \pm 90,38	1804,60 \pm 53,35	1,781 \pm 0,022	-
Óleo de vísceras (1-42 dias) <i>Poultry Offal Oil</i>	3347,56 \pm 83,93	1845,50 \pm 40,70	1,814 \pm 0,023	-
Óleo de girassol (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Sunflower Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	3290,14 \pm 15,16	1795,80 \pm 21,84	1,832 \pm 0,031	-
Óleo de canola (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Rapeseed Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	3192,59 \pm 18,93	1720,70 \pm 11,48	1,855 \pm 0,006	-
Óleo de linhaça (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Linseed Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	3252,75 \pm 41,30	1763,88 \pm 30,91	1,844 \pm 30,91	-
Óleo de vísceras (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Poultry Offal Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	3270,95 \pm 93,09	1760,00 \pm 74,82	1,861 \pm 0,028	-
CV (%)	2,99	3,71	1,88	-
1 a 42 dias <i>1 to 42 days</i>				
Óleo de soja (1-42 dias) <i>Soybean Oil</i>	4294,50 \pm 46,67	2546,64 \pm 30,97	1,687 \pm 0,007	2591,85 \pm 31,16
Óleo de girassol (1-42 dias) <i>Sunflower Oil</i>	4270,70 \pm 65,06	2520,73 \pm 33,60	1,694 \pm 0,007	2566,40 \pm 33,51
Óleo de canola (1-42 dias) <i>Rapeseed Oil</i>	4378,00 \pm 36,18	2559,67 \pm 6,64	1,711 \pm 0,010	2605,56 \pm 6,81
Óleo de linhaça (1-42 dias) <i>Linseed Oil</i>	4333,50 \pm 112,62	2589,17 \pm 68,45	1,673 \pm 0,013	2634,92 \pm 68,63
Óleo de vísceras (1-42 dias) <i>Poultry Offal Oil</i>	4433,20 \pm 120,66	2612,11 \pm 67,65	1,697 \pm 0,015	2657,62 \pm 67,58
Óleo de girassol (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Sunflower Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	4390,60 \pm 27,98	2577,17 \pm 13,69	1,704 \pm 0,017	2622,81 \pm 13,67
Óleo de canola (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Rapeseed Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	4291,30 \pm 15,94	2502,23 \pm 8,88	1,715 \pm 0,003	2547,88 \pm 9,06
Óleo de linhaça (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Linseed Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	4369,60 \pm 64,52	2572,01 \pm 49,38	1,699 \pm 0,008	2617,92 \pm 49,15
Óleo de vísceras (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Poultry Offal Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	4404,10 \pm 123,81	2554,72 \pm 90,42	1,725 \pm 0,016	2599,97 \pm 90,35
CV (%)	3,12	3,38	1,17	3,32

Parâmetros ósseos

Os dados referentes à resistência óssea, densitometria óptica radiográfica e cinzas dos fêmures são apresentados nas Figuras 1, 2, 3 e 4.

Em relação ao conteúdo mineral do fêmur, no período de 1 a 21 dias de idade, observou-se aumento linear ($P < 0,05$) no peso das cinzas (g) para todos os tratamentos estudados, entretanto, as aves alimentadas com óleo de linhaça apresentaram melhores resultados quando comparadas àquelas que receberam outras fontes de óleo. A concentração de cinzas (%), determinada nos ossos dos frangos que receberam óleos de linhaça e de vísceras nas rações, apresentou comportamento quadrático ($P < 0,05$) com maiores valores obtidos a partir dos 14 dias de idade, contudo, para os demais tratamentos os resultados mantiveram-se constantes durante toda a fase inicial.

Esses resultados corroboram, em parte, os relatados por Liu et al. (2003a) que verificaram maiores concentrações de cinzas na tíbia que codornas alimentadas com óleo de peixe (rico em ácidos graxos ômega 3) quando comparadas àquelas que receberam óleo de frango nas rações, na segunda semana de idade.

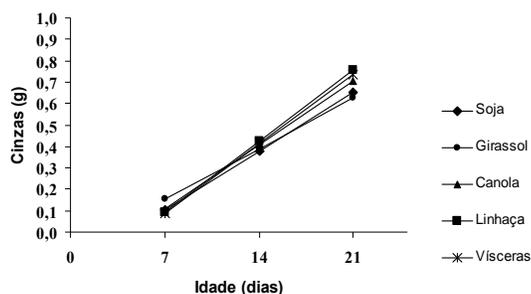


FIGURA 1. Peso das cinzas determinado no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes fontes de óleo, no período de 1 a 21 dias de idade.

Figure 1. Ash weight (g) determined in broilers femur, fed with different oils source during the period of 1 to 21 days of age.

Soja (Soybean) – $\hat{Y} = -0,172689 + 0,0393155 * I$ ($R^2 = 0,99$); Girassol (Sunflower) – $\hat{Y} = -0,0797834 + 0,0335369 * I$ ($R^2 = 0,99$); Canola (Rapeseed) – $\hat{Y} = -0,185683 + 0,0423262 * I$ ($R^2 = 0,99$); Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = -0,23625 + 0,0471619 * I$ ($R^2 = 0,99$); Vísceras (Poultry Offal) – $\hat{Y} = -0,236811 + 0,0464119 * I$ ($R^2 = 0,99$). I = idade (age)

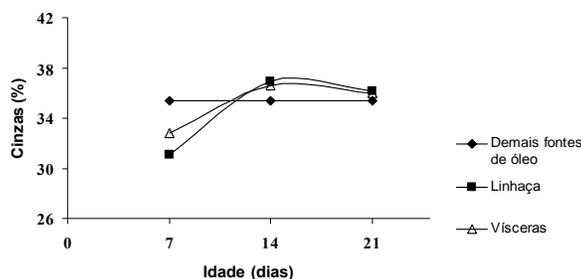


FIGURA 2. Concentração das cinzas (%) determinada no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes fontes de óleo, no período de 1 a 21 dias de idade.

Figure 2. Ash concentration (%) determined in broilers femur, fed with different oils sources during the period of 1 to 21 days of age.

Linhaça (*Linseed*) - $\hat{Y} = -18,6583 + 2,23902 * I - 0,066906 * I^2$ ($R^2 = 0,99$); Visceras (*Poultry Offal*) - $\hat{Y} = 24,7246 + 1,460004 * I - 0,0439575 * I^2$ ($R^2 = 0,99$); Demais fontes de óleo (*Others oil sources*) - $\hat{Y} = 35,78$. I = idade (age)

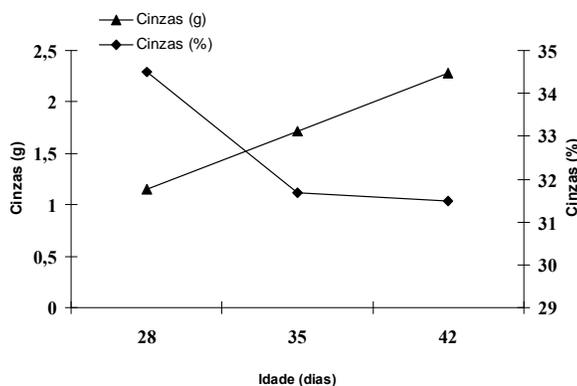


FIGURA 3. Peso (g) e concentração (%) das cinzas determinados no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes fontes de óleo, no período de 28 a 42 dias de idade.

Figure 3. Ash weight (g) and concentration (%) determined in broilers femur, fed with different oil sources during the period of 28 to 42 days of age.

Peso (*Weight*) - $\hat{Y} = -1,11358 + 0,0809271 * I$ ($R^2 = 0,99$); Concentração (*Concentration*) - $\hat{Y} = 72,2769 - 2,10492 * I + 0,0270001 * I^2$ ($R^2 = 0,99$). I = idade (age)

Os mecanismos que enfatizam os efeitos dos ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3 sobre a mineralização óssea podem ser atribuídos à sua habilidade de reduzir a excreção de minerais por meio da urina (Claassen et al., 1995), fato que poderia justificar maior peso e concentração de cinzas nos ossos das aves alimentadas com óleo de linhaça.

No período de 28 aos 42 dias de idade, não foram verificadas diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos para o conteúdo mineral (g e %), entretanto, observou-se efeito da idade sobre essas variáveis ($P<0,05$) com redução na porcentagem de cinzas, a partir dos 28 dias, embora, o peso tenha aumentado linearmente por todo o período.

Esses resultados corroboram, em parte, os encontrados por Watkins et al. (1996), que não verificaram diferenças na adição de diferentes fontes dietéticas de ácidos graxos (óleo de peixe e soja) sobre o comprimento, a porcentagem de cinzas e o conteúdo mineral (mg/mm) do osso tibiotarsal de aves aos 19 dias de idade. Resultados semelhantes também foram obtidos por Watkins et al. (1997) para o comprimento, a porcentagem de cinzas e a concentração de Ca na tibia de frangos de corte, aos 21 e 42 dias de idade. Esses mesmos autores também não encontram diferenças sobre o comprimento da tibia ao incluírem óleo de soja ou óleo de manteiga anidro em rações para frangos de corte no período de 1 aos 16 dias de idade.

Os resultados encontrados demonstraram que o enriquecimento das rações com fontes de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 pode melhorar a composição mineral do fêmur de frangos de corte na fase inicial, embora a resistência e a densitometria mineral óssea não tenham sido influenciadas ($P>0,05$) pelos tratamentos estudados.

Rath et al. (1999) afirmaram que a resistência não está condicionada apenas em nível de minerais, mas também à estrutura orgânica do osso. Os autores explicam que o osso é um tecido complexo composto pelas matrizes orgânicas e inorgânicas que oferecem suporte e resistência mecânica. A matriz inorgânica, principalmente, hidroxiapatita, fornece a resistência à compressão e à matriz orgânica, composta predominantemente por colágeno, provém a resistência à tensão e serve de suporte para a incorporação da matriz inorgânica. Dessa forma, não somente o conteúdo mineral,

mas também a concentração de colágeno e as ligações cruzadas entre as moléculas de colágeno contribuem para o aumento da resistência óssea (Liu et al., 2004).

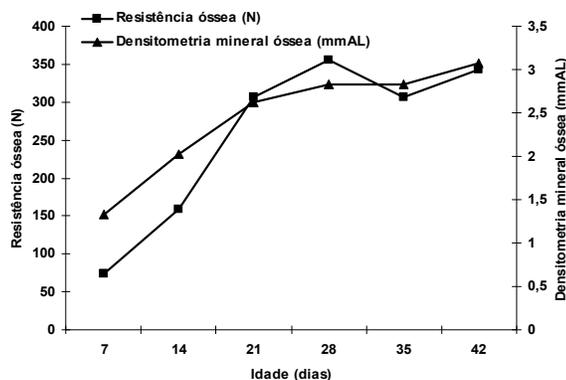


FIGURA 4. Valores de resistência (N) e densitometria mineral óssea (mmAL) determinados no fêmur de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade.

Figure 4. Bone strength and mineral density values determined in broilers femur during the period of 1 to 42 days of age.

$$\text{Resistência óssea (Bone strength)} - \hat{Y} = (0,02697 - 0,002413 * I + 0,00007849 * I^2 - 0,0000008256 * I^3)^{-1} \quad (R^2 = 0,99);$$

$$\text{Densitometria mineral óssea (Bone mineral density)} - \hat{Y} = (1,204 - 0,08157 * I + 0,002595 * I^2 - 0,00002741 * I^3)^{-1} \quad (R^2 = 0,99).$$

I = idade (age)
 $\hat{Y} \sim \text{gamma}$

Embora os diferentes tratamentos não tenham influenciado a resistência e a densitometria mineral óssea, estas variáveis apresentaram comportamento cúbico ($P < 0,05$) de acordo com o avanço da idade, no período de 1 a 42 dias. Esses resultados discordam daqueles investigados por Yalcin et al. (2001), visto que, ao avaliarem a concentração de cinzas (%), a densidade mineral e a resistência óssea em frangos de corte aos 1º, 16, 32 e 48 dias, os autores concluíram que essas variáveis progrediram de forma quadrática com o avanço da idade.

Os valores referentes à concentração de cinzas (%) e a resistência óssea reduziram a partir dos 28 dias, entretanto, a resistência óssea recuperou-se enquanto que a concentração de cinzas permaneceu reduzida após os 35 dias de idade. Esses resultados corroboram em parte os relatados por Rath et al. (2000) que observaram aumento nessas

características com pico entre a 3^a e a 5^a semana de idade, seguida de uma subsequente redução na resistência, embora o conteúdo de cinzas tenha permanecido constante. Segundo os autores, as propriedades biomecânicas podem mudar de acordo com a dinâmica das mudanças físicas e fisiológicas do osso, proporcionando um osso relativamente forte no período inicial de crescimento que será substituído por um osso resistente na fase final. Essas mudanças podem estar correlacionadas com mudanças que ocorrem nas ligações cruzadas das moléculas de colágeno.

Esse fato poderia explicar o comportamento observado nesse trabalho para os dados referentes às cinzas e a resistência e densitometria mineral óssea das aves no período de 1 a 42 dias de idade, visto que, embora a resistência e a densidade óssea sejam consideradas o reflexo do conteúdo mineral do osso, essas variáveis também podem ser influenciadas pela química da matriz orgânica óssea (Knott et al., 1995). De acordo com Knott & Bailey (1998), o colágeno é o mais abundante constituinte orgânico do osso e a redução na sua síntese ou na sua organização pode afetar a resistência biomecânica dos tecidos.

Os resultados obtidos para os parâmetros ósseos: peso, comprimento e diâmetro absolutos e Índice de Seedor das tíbias e fêmures encontram-se nas Figuras 5 e 6.

Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos utilizados para as variáveis: peso, comprimento e diâmetro absolutos do osso, e Índice de Seedor. Esses resultados, provavelmente, estejam correlacionados com o período de fornecimento das diferentes fontes lipídicas, sugerindo que o tempo necessário para se obter efeitos sobre essas características seja superior, conforme relatado por Liu et al. (2004).

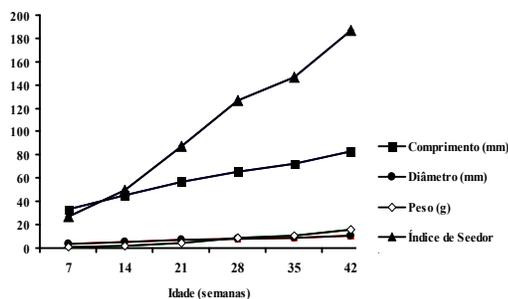


FIGURA 5. Parâmetros de crescimento do fêmur de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade.

Figure 5.

Growth parameters of broilers femur during the period of 1 to 42 days of age.

Comprimento (*Length*): $\hat{Y} = (0,02902 - 0,001251 * I + 0,00002858 * I^2 - 0,0000002444 * I^3)^{-1}$ -

$R^2=0,99$; Diâmetro (*Width*): $\hat{Y} = (0,4653 - 0,02704 * I + 0,0007277 * I^2 - 0,000006912 * I^3)^{-1}$ -

$R^2=0,99$; Peso (*Weight*): $\hat{Y} = (1,103 - 0,08722 * I + 0,002467 * I^2 - 0,00002361 * I^3)^{-1}$ - $R^2=0,99$;

Índice de Seedor (*bone weight/bone length Index*): $\hat{Y} = (0,05223 - 0,003761 * I + 0,0001055 * I^2 -$

$0,00000102 * I^3)^{-1}$ - $R^2=0,99$. I = idade (*age*)

$\hat{Y} \sim \text{gamma}$

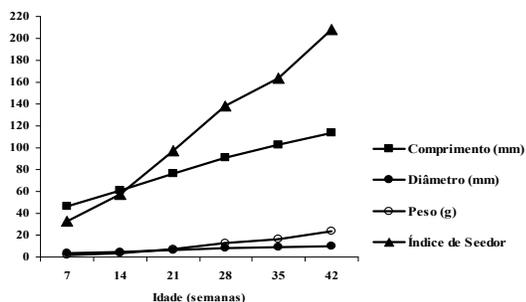


FIGURA 6. Parâmetros de crescimento da tíbia de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade.

Figure 6.

Growth parameters of broilers tibia during the period of 1 to 42 days of age.

Comprimento (*Length*) - $\hat{Y} = (0,04194 - 0,002102 * I + 0,00005668 * I^2 - 0,0000005618 * I^3)^{-1}$ -

$R^2=0,99$; Diâmetro (*Width*) - $\hat{Y} = (0,4774 - 0,03113 * I + 0,0009379 * I^2 - 0,000009855 * I^3)^{-1}$ -

$R^2=0,99$; Peso (*Weight*) - $\hat{Y} = (1,83 - 0,15 * I + 0,004367 * I^2 - 0,00004276 * I^3)^{-1}$ - $R^2=,99$;

Índice de Seedor (*bone weight/bone length Index*) - $\hat{Y} = (0,06378 - 0,004779 * I + 0,0001369 * I^2 -$

$0,000001339 * I^3)^{-1}$ - $R^2=0,99$. I = idade (*age*)

$\hat{Y} \sim \text{gamma}$

As características de crescimento e de qualidade óssea (peso, comprimento e diâmetro absolutos e Índice de Seedor) da tíbia e do fêmur, embora não tenham sido influenciadas pelos diferentes tratamentos estudados, apresentaram desenvolvimento cúbico ($P < 0,05$) em função da idade no período de 1 a 42 dias de idade.

Esses resultados estão em desacordo com os encontrados por Skinner & Waldroup (1995) e Bruno (2002), que verificaram aumento linear para o comprimento e diâmetro dos ossos longos de frangos de corte. No entanto, Applegate & Lilburn (2002) observaram que o comprimento do fêmur, como uma função do peso vivo, alcançou um platô aos 35 dias de idade, enquanto a tíbia cresceu durante todo o período de 1 a 43 dias de idade. Os autores concluem que a seleção para rápido crescimento não mudou o crescimento proporcional da tíbia e do fêmur, o que significa que o frango de corte atual está carregando maior quantidade de peso vivo sobre um esqueleto menos maduro, aumentando a pré-disposição para problemas ósseos.

Esse fato é confirmado por Reddsih & Lilburn (2004) que obtiveram menores valores para o comprimento e diâmetro do fêmur e da tíbia em linhagens melhoradas para maior produção de peito, as oito semanas de idade.

Os resultados observados para os parâmetros: índice de Seedor, resistência óssea, densidade mineral óssea (1 a 42 dias de idade) e a porcentagem de cinzas (28 aos 42 dias de idade) confirmam a relação existente entre essas variáveis. Contudo, tais mudanças na mineralização e qualidade óssea com o avanço da idade podem estar correlacionadas com o aumento na taxa de crescimento muscular a partir dos 21 dias de idade (Scheuermann et al., 2003), levando a estrutura óssea a se adaptar para oferecer o suporte necessário ao tecido que está sendo rapidamente desenvolvido.

Esse fato é justificado por Williams et al. (2000) que sugerem que aves selecionadas para rápido crescimento produzem tibiotarsos com dimensões corretas com intuito de resistir ao esforço a um dado peso vivo, entretanto, esses ossos têm se apresentado mais porosos, seja devido a problemas relacionados com a suplementação de Ca e P ou na utilização dos minerais durante a formação óssea.

Conclusões

As aves alimentadas com óleo de linhaça nas rações apresentaram melhor desempenho no período de 1 a 7 dias de idade e o uso dessa fonte de óleo se mostrou benéfica para a mineralização óssea na fase inicial de criação.

Os parâmetros de crescimento e qualidade óssea não foram influenciados pelas diferentes fontes de óleo estudadas, inclusive aquelas com maiores concentrações de ômega 6, sugerindo que são necessários maiores níveis de inclusão ou períodos de fornecimento superiores para que os frangos de corte apresentem respostas quanto a essas variáveis.

Literatura Citada

- APPLEGATE, T.J.; LILBURN, M.S. Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. **Poultry Science**, v.81, p.1289-1294, 2002.
- BRUNO, L.D.G. **Desenvolvimento ósseo em frangos: influência da restrição alimentar e da temperatura ambiente**. 2002. 77 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- CLAASSEN, N.; COETZER, H.; STEINMANN, C.M. et al. The effect of different n-6/n-3 essential fatty acid ratios on calcium balance and bone in rats. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 53, p.13-19, 1995.
- CRESPO, N.; ESTEVE-GARCIA, E. Dietary polyunsaturated fatty acids decrease fat deposition in separable fat depots but not in the remainder carcass. **Poultry Science**, v.81, p.512–518, 2002.
- DELL'ISOLA, A.T.P.; VELOSO, J.A.F.; BAIÃO, N.C. et al. Efeito do óleo de soja em dietas com diferentes níveis de cálcio sobre a absorção e retenção óssea de cálcio e fósforo em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.4, p.461-466, 2003.
- FERREIRA W.M. **Digestão e metabolismo dos lipídios**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG; 1999. p.1-34.
- FERRER, C.; PEDRAGOSA, E.; TORRAS-LLORT, M. et al. Dietary lipids modify brush border membrane composition and nutrient transport in chicken small intestine. **Journal of Nutrition**, v.133, p.1147-1153, 2003.

- FURLAN, R.L.; MACARI, M. Lipídios: digestão e absorção. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L., GONZALES, E. (Ed.). **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.143-148.
- GAIOTTO, J.B. **Determinação da energia metabolizável de gorduras e sua aplicação na formulação de dietas para frangos de corte**. 2004. 82p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2004.
- GAIOTTO, J.B.; MENTEN, J.F.M.; RACANICCI, A.M.C. et al. Óleo de soja, Óleo ácido de soja e sebo bovino como fontes de gordura em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.3, p.219-227, 2000.
- GONZALES, E.; SARTORI, J.R. Crescimento e metabolismo muscular. In: MACARI, M., FURLAN, R.L., GONZALES, E. (Ed.). **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. 2002. p.279-297.
- KNOTT, L.; WHITEHEAD, C.C.; FLEMING, R.H. et al. Biochemical changes in the collagenous matrix of osteoporotic avian bone. **Biochemical Journal**, v.310, p.1045-1051, 1995.
- KNOTT, L.; BAILEY, A.J. Collagen cross-links in mineralizing tissues: a review of their chemistry, function and clinical relevance. **Bone**, v.22, p.181-187, 1998.
- LILBURN, M. Skeletal growth of commercial poultry species. **Poultry Science**, v.73, p.897-903, 1994.
- LIU, D.; DENBOW, D.M. Maternal dietary lipids modify composition of bone lipids and ex vivo prostaglandin E₂ production in early postnatal Japanese quail. **Poultry Science**, v.80, n.9, p.1344-1352, 2001.
- LIU, D.; VEIT, H.P.; WILSON, J.H. et al. Maternal dietary lipids alter bone chemical composition, mechanical properties, and histological characteristics of progeny of japanese quail. **Poultry Science**, v.82, p.463-473, 2003a.
- LIU, D.; VEIT, H.P.; WILSON, J.H. et al. Long-term supplementation of various dietary lipids alters bone mineral content, mechanical properties and histological characteristics of Japanese quail. **Poultry Science**, v. 82, p.831-839, 2003b.
- LIU, D.; VEIT, H.P.; DENBOW, D.M. Effects of long-term dietary lipids on matures bone mineral content, collagen, crosslinks, and prostaglandin E₂ production in Japanese quail. **Poultry Science**, v.83, p.1876-1883, 2004.
- MCCULLOCH, C.E.; SEARLE, S.R. **Generalized, linear, and mixed models**. New York: John Wiley, 2001. 325p.
- NELDER, J.A.; WEDDERBURN, W.M. Generalized linear models. **Journal Royal Statistic Society**, v.135, n.3, p.370-384, 1972.
- NOY Y.; SKLAN, D. Digestion and absorption in the young chick. **Poultry Science**, v. 74, p.366-373, 1995.
- PATTISON, M. Impacts of bone problems on the poultry meat industry. In: WHITEHEAD, C.C. (Ed.). **Bone Biology and Skeletal Disorders in Poultry**. Abingdon: Carfax Publishing Company, 1992. p. 329-338.
- RATH, N.C.; BALOG, J.M.; HUFF, W.E. Comparative differences in the composition and biochemical properties of tibia of seven- an seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v.78, p.1232-1239, 1999.

- RATH, N.C.; HUFF, G.R.; HUFF, W.E. et al. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**. v.79, p.1024-1032, 2000.
- REDDISH, J.M.; LILBURN, M.S. A comparison of growth and development patterns in diverse genotypes of broilers. 1. Male broilers growth. **Poultry Science**, v.83, p.1067-1071, 2004.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. 186p.
- SCHEUERMANN, G.N.; BILGILI, S.F.; HESS, J.B. et al. Breast muscle development in commercial broiler chickens. **Poultry Science**, v.82, p.1648-1658, 2003.
- SEEDOR, J.G. et al. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.6, p.339-346, 1991.
- SKINNER, J.T.T; WALDROUP, P.W. Allometric bone development in floor-reared broilers. **Journal Applied Poultry Research**, v.4, n.3, p.265-270, 1995.
- 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, 1992. p.67-86.
- 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.; SHEN, C.; McMURTRY, J.P. et al. Dietary lipids modulate bone prostaglandin E₂ production, insulin-like growth factor – I concentration and formation rate in chicks. **Journal of Nutrition**, v.127, n.6, p.1084-1091. 1997.
- WATKINS, B.A.; SHEN, C.; ALLEN, K.G.D. et al. Dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated and acetylsalicylic acid alter *ex vivo* PGE₂ biosynthesis, tissue IGF-I levels, and bone morphometry in chicks. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.11, n.9, p.1321-1332, 1996.
- WATKINS, B.A., WHITEHEAD, C.C., DUFF, S.R.I. Hydrogenated oil decreases tissue concentrations of n-6 polyunsaturated fatty acids and may contribute to dyschondroplasia. **British Poultry Science**, v.32, p.1109-1119, 1991.
- WILLIAMS, B.; SOLOMON, S.; WADDINGTON, D. et al. Skeletal development in the meat-type chicken. **British Poultry Science**, v.41, p.141-149, 2000.
- 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.
- YALCIN, S.; ÖZKAN, S.; COSKUNER, E. et al. Effects of strain, maternal age and sex on morphological characteristics and composition of tibial bone in broilers. **British Poultry Science**, v.42, n.2, p.184-190, 2001.

IV – Efeito da Adição de Diferentes Fontes de Óleo nas Rações sobre o Perfil de Ácidos Graxos e a Concentração de prostaglandina (PGE₂) em Ossos de Frangos de Corte

RESUMO – O objetivo desse trabalho foi avaliar o perfil de ácidos graxos e a concentração de PGE₂ em tíbias de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade. Na fase de 1 a 21 dias, foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições e 50 aves/unidade experimental, em que as aves receberam rações formuladas com diferentes fontes de óleo: soja (OS), girassol (OG), canola (OC), linhaça (OL) e vísceras (OV). Na fase de 22 a 42 dias, utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com nove tratamentos com três repetições e 44 aves/unidade experimental, visto que, cada tratamento utilizado na fase inicial foi desmembrado em dois tratamentos, de modo que um grupo de aves continuou a receber a mesma fonte de óleo utilizada na fase anterior e outro grupo passou a receber OS na dieta. Aos 21 dias, as aves alimentadas com OL apresentaram maiores concentrações (P<0,05) dos ácidos linolênico (18:3n-3), eicosapentaenóico (20:5n-3), docosapentaenóico (22:5n-3) e docosahexaenóico (22:6n-3) nos ossos, enquanto que os maiores níveis (P<0,05) dos ácidos linoléico (18:2n-6) e araquidônico (20:4n-6) foram obtidos para o OG. No período de crescimento, as aves que receberam os mesmos tratamentos utilizados na fase inicial e aquelas que passaram a receber OS refletiram no osso o perfil de ácidos graxos das rações. Contudo, as concentrações dos ácidos graxos ômega 3 na tíbia das aves alimentadas com OL reduziram com a idade, demonstrando que a incorporação lipídica depende da necessidade do tecido, considerando que nessa fase o crescimento ósseo é mais lento. Aos 21 dias, a concentração de PGE₂ foi reduzida (P<0,05) para o tratamento baseado em OL quando esse foi comparado ao OG, OV e OC, contudo, aos 42 dias não houve influência dos tratamentos (P>0,05) sobre essa variável. Conclui-se que a composição lipídica da ração é refletida no perfil lipídico dos ossos e que fontes de óleo ricas em ácidos graxos ômega 3 são capazes de diminuir a concentração de PGE₂ nas células, reduzindo os problemas relacionados com a formação óssea em frangos de corte.

Palavras-chave: lipídios, ômega 3, ômega 6, prostaglandina E₂, tíbia

Addition Effect of Different Oil Sources in Diets on Bone Fatty Acids Profile and Prostaglandin (PGE₂) Concentration of Broilers Chickens

ABSTRACT – The aim of this trial was directed to evaluate the fatty acids profile and PGE₂ concentration in tibia of broiler chickens, from 1 to 42 days of age. From 1 to 21 days a completely randomized design was used with five treatments, six replicates and 50 birds per experimental unit, where birds received diets formulated with different oil sources: soybean (SO), sunflower (SNO), rapeseed (RO), linseed (LO) and poultry offal (PO). For growing phase (22 to 42 days) each treatment used in starting phase was divided into two treatments, so that a group of birds continued to receive the same oil source used in previous phase and other group started to receive SO in diet. Therefore, in this phase nine treatments, three replicates and 44 birds per experimental unit were used, also in a completely randomized design. In starting phase birds fed with LO had the highest linolenic (18:3n-3), eicosapentaenoic (20:5n-3), docosapentaenoic (22:5n-3) and docosahexaenoic (22:6n-3) acids concentration (P<0.05) in bone, while the highest levels (P<0.05) of 18:2n-6 and 20:4n-6 was observed for SNO, at 21 days. In growing period, birds that kept receiving treatments used in starting phase and those which started receiving SO in diets presented a bone fatty acid profile similar to diets. However, the concentration of omega 3 fatty acids in tibia of birds fed with LO was reduced with the advancing birds age, demonstrating that the lipid incorporation in tissue depend on of its need, considering that in this phase the growth bone is slower. In starting phase, the PGE₂ concentration was reduced (P<0.05) under treatment based on LO in comparison to the SNO, PO and RO treatments. In growing phase there was not an influence (P>0.05) of treatments on this variable. It was concluded that diet lipid composition reflected in bone, and oil sources rich in omega 3 fatty acids were capable to reduce PGE₂ concentration in cells, reducing problems related to bone formation in broiler chickens.

Key words: lipids, omega 3, omega 6, prostaglandin E₂, tibia

Introdução

Por muitos anos, a seleção genética de frangos de corte para uma maior taxa de crescimento tem sido associada a um aumento no peso do músculo do peito quando comparado aos músculos e ossos das pernas (Lilburn, 1994). Essa redistribuição desuniforme do peso corporal levou a maiores problemas ósseos em linhagens de rápido crescimento, o que tem resultado em uma maior preocupação por parte dos pesquisadores em relação às características morfológicas e à composição dos ossos das pernas (Yalcin, 2001).

Segundo Rath et al. (1999), os problemas ósseos são uma das principais questões relacionadas à saúde em aves reprodutoras e frangos de corte, visto que, podem causar grandes perdas econômicas na indústria avícola (Leterrier & Nyr, 1992).

Devido à rápida taxa de crescimento e desenvolvimento dos ossos longos, as aves são bastante sensíveis às manipulações nutricionais e biomecânicas que afetam diretamente esse processo (Bain & Watkins, 1993). A dieta destaca-se como um importante componente que influencia o desenvolvimento ósseo, uma vez que vários nutrientes podem afetar diretamente o crescimento do osso (Praul et al., 2000).

Muitos nutrientes podem influenciar o crescimento, desenvolvimento, modelagem e remodelagem dos ossos, sendo que dentre eles destacam-se: o cálcio, o fósforo, a vitamina D₃ (Liu et al., 2003), o sódio e o cloro (Murakami et al., 2001, Oviedo-Rondón et al., 2001).

Os lipídios têm recebido atenção devido à sua atuação sobre o metabolismo do osso. Trabalhos têm reportado que a incorporação dos ácidos graxos poliinsaturados nos fosfolipídios das células ósseas ocorre de acordo com o perfil de ácidos graxos da dieta (Xu et al., 1994, Watkins et al., 1996 e 1997). Além disso, dependendo do tipo e da

quantidade ingerida, o crescimento, o desenvolvimento e, também, o conteúdo mineral dos ossos podem ser aumentados ou reduzidos por influência dos lipídios da dieta (Liu et al., 2003).

Segundo Watkins et al. (2000a), os lipídios dietéticos podem afetar a função celular por fazerem parte da composição dos fosfolipídios das membranas celulares.

Os ácidos graxos essenciais, linoléico e α -linolênico são os nutrientes alimentares que atuam como precursores dos ácidos graxos araquidônico, EPA (eicosapentaenóico) e DHA (docosahexaenóico), respectivamente, mediante uma série de reações de insaturação e alongamento da cadeia carbônica. Os processos de conversão desses ácidos graxos essenciais em poliinsaturados ocorrem no fígado das aves (Watkins, 2003).

O ácido graxo araquidônico (18:2n-6), uma vez produzido, é estocado nos fosfolipídios das membranas dos osteoblastos e condrócitos, e serve como substrato para a síntese de eicosanóides, principalmente, a prostaglandina E_2 que age tanto na formação quanto na reabsorção óssea (Watkins et al., 2001). A atuação da PGE_2 , no metabolismo ósseo, parece ser dose-dependente, ou seja, em baixas concentrações estimula a formação e em altas concentrações promove a reabsorção óssea (Liu & Denbow, 2001).

As vias de síntese dos eicosanóides começam com a atuação da cicloxigenase, que produz prostaglandinas e tromboxanos, ou com a 5, 12 ou 15-lipoxigenase, que produz leucotrienos, ácidos peroxieicosatetraenóico e hidroxieicosatetraenóico, e lipoxinas. Na maioria das vezes, o principal precursor desses componentes é o ácido araquidônico, entretanto, o EPA e o DHA inibem competitivamente a oxigenação do ácido araquidônico pela cicloxigenase. Além disso, o EPA pode servir de substrato tanto para a cicloxigenase quanto para a 5-lipoxigenase, que resulta em decréscimo na

concentração e, concomitantemente, reduz a capacidade de síntese dos eicosanóides provenientes do ácido araquidônico (Calder, 1998).

Com base nessas informações, o objetivo desse trabalho foi verificar o efeito da adição de diferentes fontes de óleo sobre o perfil de ácidos graxos e a produção de PGE₂ na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá – UEM. Foram utilizados 1500 pintos de um dia de idade (peso médio de 45g), machos, da linhagem Cobb-Vantress[®]. As aves foram alojadas em um galpão convencional dividido em boxes de 6,3 m² com cobertura de telha francesa e lanternin, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com tela de arame até o telhado, providas de cortinas laterais. Foi utilizada cama do tipo maravalha sobre o piso.

Na fase inicial, foram utilizados comedouros do tipo bandeja e bebedouros do tipo copo de pressão até o quinto dia de idade, sendo os mesmos substituídos gradativamente pelos comedouros tubulares e bebedouros automáticos do tipo pendular. Em cada box, foi utilizado um círculo de proteção e uma campânula como fonte de aquecimento para os pintainhos. Água e ração foram fornecidas à vontade em um programa de alimentação dividido em duas fases, sendo a inicial do 1º aos 21 dias de idade, e a de crescimento/acabamento, dos 22 aos 42 dias de idade.

Foi adotado um programa de luz contínuo durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23 horas de luz/dia. As temperaturas médias

dentro do galpão foram: máxima de $26,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, mínima de $19,9 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa média de $53,8 \pm 10,0\%$.

As aves receberam rações formuladas com 5 diferentes fontes de óleo, a saber: óleo de soja, girassol, canola, linhaça e frango, na fase inicial (1 a 21 dias). Na fase de crescimento/acabamento (22 a 42 dias) cada tratamento utilizado na fase inicial foi desmembrado em dois tratamentos, de modo que um grupo de aves continuou a receber a mesma fonte de óleo utilizada na fase anterior e outro grupo passou a receber na dieta óleo de soja.

Dessa forma, na fase inicial (1 a 21 dias de idade), foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições com 50 aves/unidade experimental. Já na fase de crescimento/acabamento (22 a 42 dias de idade), foram utilizados nove tratamentos, com três repetições e 44 aves/unidade experimental (considerando as aves sacrificadas na fase inicial), também em um delineamento inteiramente casualizado, conforme descrição a seguir:

A – óleo de soja (1 a 42 dias de idade);

B – óleo de girassol (1 a 42 dias de idade);

C – óleo de canola (1 a 42 dias de idade);

D – óleo de linhaça (1 a 42 dias de idade);

E – óleo de vísceras (1 a 42 dias de idade);

F – óleo de girassol (1 a 21 dias de idade) e óleo de soja (22 a 42 dias de idade);

G – óleo de canola (1 a 21 dias de idade) e óleo de soja (22 a 42 dias de idade);

H – óleo de linhaça (1 a 21 dias de idade) e óleo de soja (22 a 42 dias de idade);

I – óleo de vísceras (1 a 21 dias de idade) e óleo de soja (22 a 42 dias de idade).

As rações experimentais foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais para as fases: inicial (1-21 dias de idade) e de crescimento/acabamento (22-

42 dias de idade), de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005), de forma a serem isoenergéticas, isoaminoacídicas, isocálcicas e isofosfóricas. As composições percentual e calculada das rações experimentais encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

Foram avaliados o perfil de ácidos graxos e a concentração de prostaglandina (PGE_2) nos ossos, utilizando-se as tíbias direita e esquerda das aves. Para a realização dessas análises foi amostrada, aleatoriamente, uma ave/repetição aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade.

Após o sacrifício, por meio de atordoamento seguido de sangria (aprovado pelo Comitê de Ética Animal – Registro Nº 069/2003), foram coletadas as tíbias esquerdas das aves, retirando-se os tecidos envolventes, sendo que as amostras ficaram congeladas ($-18^\circ C$) até o início das análises do perfil de ácidos graxos. As tíbias direitas foram utilizadas para a determinação de PGE_2 , e processadas logo após a coleta.

Determinação do perfil lipídico

As análises referentes ao perfil lipídico das rações e dos ossos foram realizadas no Laboratório de Química da Universidade Estadual de Maringá. A extração de ácidos graxos do osso cortical foi realizada de acordo com as metodologias descritas por Bligh & Dyer (1959) e Liu (2000). A tibia esquerda foi descongelada, retirando-se o perióstio e a medula óssea, e lavando-se com soro fisiológico (0,9%) para retirada das células medulares remanescentes.

TABELA 1. Composições percentual e calculada das rações experimentais (1 a 21 dias)
 Table 1. Percentual and calculated composition of experimental diets (1 to 21 days)

Ingredientes <i>Ingredients</i>	Fontes de óleo <i>Oil Sources</i>				
	Soja <i>Soybean</i>	Canola <i>Rapessed</i>	Girassol <i>Sunflower</i>	Linhaça <i>Linseed</i>	Visceras <i>Poultry Offal</i>
Milho, grão <i>Corn, grain</i>	61,61	61,49	61,62	61,57	61,52
Farelo de soja, 45% <i>Soybean meal, 45%</i>	31,31	31,43	31,30	31,35	31,40
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	1,89	1,89	1,89	1,89	1,89
Calcário <i>Limestone</i>	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01
Óleo <i>Oil</i>	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Sal comum <i>Salt</i>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-metionina, 98% <i>DL-methionine, 98%</i>	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
L-lisina HCl, 78% <i>L-Lysine HCl, 78%</i>	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Suplemento mineral ¹ <i>Mineral Supplement</i>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. vitamínico ² <i>Vitamin supplement</i>	0,1	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT <i>BHT</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100	100	100	100	100
Valores calculados <i>Calculated values</i>					
PB (%) <i>Crude protein</i>	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
EMA (kcal/kg) <i>Metabolizable energy</i>	3.050	3.050	3.050	3.050	3.050
Met + Cis (%) <i>Methionine + cistine</i>	0,912	0,912	0,912	0,912	0,912
Lisina (%) <i>Lysine</i>	1,284	1,284	1,284	1,284	1,284
Cálcio (%) <i>Calcium</i>	0,976	0,976	0,976	0,976	0,976
Fósforo disponível(%) <i>Available phosphorus</i>	0,458	0,458	0,458	0,458	0,458
Extrato etéreo (%) <i>Ether extract (%)</i>	5,540	5,540	5,540	5,540	5,540
Sódio (%) <i>Sodium</i>	0,199	0,199	0,199	0,199	0,199

¹ Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

¹ Mineral Supplement (Content per kg of premix): Iron 100,000 mg; Copper 16,000 mg; Iodine 2,400 mg; Zinc 100,000 mg; Manganese 140,000 mg; Selenium 400 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g

² Suplemento Vitamínico Inicial ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 7.000.000 UI; Vit. D3 2.200.000 UI; Vit.E 11.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 2.000 mg; Vit. B2 5.000 mg, Vit. B12 12.000 mcg; Vit. B6 3.000 mg, Niacina 35.000 mg; Ácido Pantotênico 13.000 mg; Ácido Fólico 800 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

² Starting Mineral Supplement (Content per kg of premix): Vit. A 7,000,000 UI; Vit. D3 2,200,000 UI; Vit.E 11,000 mg; Vit. K3 1,600 mg; Vit. B1 2,000 mg; Vit. B2 5,000 mg, Vit. B12 12,000 mcg; Vit. B6 3,000 mg; Niacin 35,000 mg; Pantotenic Acid 13,000 mg; Folic Acid 800 mg; Antioxidant 100,000 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g.

TABELA 2. Composições percentual e calculada das rações experimentais (22 a 42 dias)

Table 2. Percentual and calculated composition of experimental diets (22 to 42 days)

Ingredientes <i>Ingredients</i>	Fontes de óleo <i>Oil Sources</i>				
	Soja <i>Soybean</i>	Canola <i>Rapessed</i>	Girassol <i>Sunflower</i>	Linhaça <i>Linseed</i>	Visceras <i>Poultry Offal</i>
Milho, grão <i>Corn, grain</i>	63,58	63,42	63,59	63,53	63,46
Farelo de soja, 45% <i>Soybean meal, 45%</i>	28,92	29,08	28,91	28,97	29,04
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59
Calcário <i>Limestone</i>	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92
Óleo <i>Oil</i>	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Sal comum <i>Salt</i>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-metionina, 98% <i>DL-methionine, 98%</i>	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
L-lisina HCl, 78% <i>L-Lysine HCl, 78%</i>	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Suplemento mineral ¹ <i>Mineral Supplement</i>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. vitamínico ² <i>Vitamin supplement</i>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT <i>BHT</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100	100	100	100	100
Valores calculados <i>Calculated values</i>					
PB (%) <i>Crude protein</i>	18,96	19,00	18,95	18,97	18,96
EMA (kcal/kg) <i>Metabolizable energy</i>	3.150	3.150	3.150	3.150	3.150
Met + Cis (%) <i>Methionine + cystine</i>	0,811	0,811	0,811	0,811	0,811
Lisina (%) <i>Lysine</i>	1,138	1,138	1,138	1,138	1,138
Cálcio (%) <i>Calcium</i>	0,860	0,860	0,860	0,860	0,860
Fósforo disponível(%) <i>Available phosphorus</i>	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Extrato etéreo (%) <i>Ether extract (%)</i>	6,990	6,990	6,990	6,990	6,990
Sódio (%) <i>Sodium</i>	0,197	0,198	0,198	0,198	0,198

¹ Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

¹ Mineral Supplement (Content per kg of premix): Iron 100,000 mg; Copper 16,000 mg; Iodine 2,400 mg; Zinc 100,000 mg; Manganese 40,000 mg; Selenium 400 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g

² Suplemento Vitamínico Crescimento ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 6.000.000 UI; Vit. D3 2.000.000 UI; Vit.E 10.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 1.400 mg; Vit. B2 4.000 mg; Vit. B12 10.000 mcg; Vit. B6 2.000 mg; Niacina 30.000 mg; Ácido Pantotênico 11.000 mg; Ácido Fólico 600 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

² Growth Mineral Supplement (Content per kg of premix): Vit. A 6,000,000 UI; Vit. D3 2,000,000 UI; Vit.E 10,000 mg; Vit. K3 1,600 mg; Vit. B1 1,400 mg; Vit. B2 4,000 mg; Vit. B12 10,000 mcg; Vit. B6 2,000 mg; Niacin 30,000 mg; Pantotenic Acid 11,000 mg; Folic Acid 600 mg; Antioxidant 100,000 mg; Vehicle q.s.p. 1,000,000g.

Após a limpeza, o osso foi envolvido em papel alumínio, congelado em N líquido e, posteriormente, triturado em gral de porcelana com auxílio de um pistilo. A cada amostra, o pistilo era lavado com água deionizada e a mistura clorofórmio: metanol.

Após a trituração, as amostras de ossos foram pesadas e colocadas em tubos de vidro para extração da matéria graxa total, adicionando-se 21 mL da solução clorofórmio: metanol (2:1, ou seja, 14 mL de clorofórmio e 7 mL de metanol), e permaneceram em geladeira, por 48 horas. Após o período, o sobrenadante da solução foi filtrado, com auxílio de papel filtro quantitativo, e recuperado em funil de separação de 250 mL. Após a filtração, ao tubo de extração foram adicionados mais 14 mL da mistura clorofórmio: metanol, homogeneizando os fragmentos ósseos e a solução, e filtrando-se novamente após prévia agitação. O mesmo procedimento foi repetido por mais duas vezes, adicionando-se 12 mL e 6 mL da solução clorofórmio: metanol aos tubos de extração contendo fragmentos ósseos. O processo de extração dos lipídios totais das rações experimentais foi efetuado segundo Bligh & Dyer (1959), com correção da umidade para 80% que propõem a mistura clorofórmio: metanol na proporção 2:1 (v/v). Pesou-se cerca de 10 g ($\pm 0,1$ mg) de amostra em béquer de 250 mL, adicionando-se 60 mL de solução clorofórmio-metanol e agitando-se vigorosamente por dois minutos. Depois foi adicionado à mistura, 20 mL de clorofórmio, agitando-se por 30 segundos, 20 mL de água deionizada, agitando-se por mais 30 segundos. A mistura foi filtrada a vácuo em funil de Buchner com papel de filtro quantitativo. Ao resíduo, ao retornar ao béquer, foram adicionados 20 mL de clorofórmio, agitando-se por dois minutos. O procedimento de filtração foi repetido, e a solução resultante foi transferida para um funil de separação de 250 mL.

Para a determinação do perfil lipídico das rações experimentais, dos ossos e das diferentes fontes de óleo, após a separação das fases, a inferior contendo o clorofórmio e

matéria graxa, foi drenada em erlenmeyer de 250 mL previamente pesado e o solvente eliminado em evaporador rotatório, com banho a 30° C. No caso dos ossos, adicionou-se 25 mL de solução salina (9%) para que a separação das fases fosse otimizada. O teor de lipídios totais foi determinado gravimetricamente.

A transesterificação dos triacilgliceróis dos ossos, das fontes de óleo e das rações foi realizada conforme o método 5509 da ISO (1978). A matéria lipídica extraída foi transferida para tubos de 10 mL com tampa rosqueável, adicionados 2 mL de n-heptano e a mistura agitada até completa dissolução da matéria graxa. Em seguida, foram adicionados 2 mL de KOH (2 mol.L⁻¹) em metanol, sendo o frasco tampado e a mistura foram submetidas à agitação vigorosa (\pm 3 minutos) até a obtenção de uma solução levemente turva. Após a ocorrência da separação das fases, a superior (n-heptano e ésteres metílicos de ácidos graxos) foi transferida para microtubos de 5 mL de capacidade, fechados hermeticamente e armazenados em congelador (- 18° C) para posterior análise cromatográfica.

Os ésteres de ácidos graxos, tanto dos ossos como das fontes de óleo e das rações, foram analisados por meio do cromatógrafo gasoso, equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida. As áreas de picos foram determinadas por meio do Integrador-processador CG-300 (Instrumentos Científicos (CG), e a identificação dos picos foi realizada por meio da comparação dos tempos de retenção com os padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma, EUA).

Determinação da concentração de prostaglandina (PGE₂)

A determinação da concentração de prostaglandina E₂, em culturas de células ósseas, foi realizada no Laboratório de Imunologia Básica da Universidade Estadual de

Maringá, de acordo com as metodologias descritas por Watkins et al. (1996), Li & Watkins (1998) e Liu & Denbow (2001).

A tíbia direita das aves, obtida aos 21 e 42 dias de idade, após a limpeza dos tecidos envolventes, foi dividida longitudinalmente e as células da medula óssea removidas por meio da lavagem com NaCl (0,9%). Retirou-se uma secção da diáfise do osso (± 20 mm de comprimento) que foi imersa em 2 mL de solução salina balanceada de Hank's e agitada por duas horas a 37°C. Após o período de incubação, o meio de cultura de células foi coletado e estocado a -80°C para posterior análise de PGE_2 . A PGE_2 foi mensurada por meio de imunoenensaio utilizando EIA *kits*® (Cayman). Os valores de PGE_2 foram expressos por unidades de peso de tecido ósseo. O anticorpo anti- PGE_2 possui as seguintes especificidades: PGE_2 – 100%, PGE_3 – 43 %, PGE_1 – 18,7% e $\text{PGF}_{2\alpha} < 0,01\%$.

Para avaliação do perfil de ácidos graxos, na tíbia das aves, foi admitida a distribuição normal e as diferenças entre os tratamentos estudados foram obtidas considerando os seguintes ácidos graxos: 18:2n-6, 18:3n-3, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-3, o total de ácidos graxos ômega 6 e 3 e a razão entre os ácidos graxos poliinsaturados e os ácidos graxos saturados, visto que os mesmos são importantes por atuarem como precursores e controladores da síntese de substâncias relacionadas com o metabolismo ósseo. Cada ácido graxo foi avaliado individualmente por meio da análise de variância e o modelo estatístico considerou os efeitos de tratamento, idade e as interações tratamento x idade. Os efeitos da idade também foram analisados por meio de regressão polinomial.

Após, foi efetuada a análise de componentes principais que envolve os mesmos ácidos graxos, a fim de comparar o perfil como um todo no período total de criação (1 a 42 dias de idade). Na análise de componentes principais foram utilizados os dois

primeiros componentes, sendo que o primeiro e o segundo explicaram 42% e 33% da variação total, respectivamente. Os coeficientes de correlação dos ácidos graxos da série ômega 6, com o componente principal um, apresentaram-se elevados e indicam a associação desses ácidos graxos com esse componente. Da mesma forma, os elevados valores encontrados para os coeficientes de correlação dos ácidos graxos da série ômega 3 com o componente principal dois indicaram a associação desses ácidos graxos com esse componente.

Após a obtenção dos componentes principais, os mesmos foram submetidos à análise de variância para a obtenção das médias de cada componente em relação ao tratamento estudado.

A análise estatística referente à concentração de PGE_2 foi efetuada por meio do método de modelos lineares generalizados (Nelder & Wedderburn, 1972), admitindo distribuição gama com função de ligação recíproca. O modelo estatístico utilizado não considerou o efeito da idade e os efeitos de tratamento foram testados por meio do teste de T de Student (distribuição gama) a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A porcentagem de ácidos graxos da fração lipídica das diferentes fontes de óleos e das rações experimentais estão apresentadas nas Tabelas 3, 4 e 5.

TABELA 3. Perfil de ácidos graxos dos diferentes óleos adicionados às rações experimentais¹

Table 3. Fatty acid profile of different oils added to experimental diets

Ácidos graxos <i>Fatty acids</i>	Soja <i>Soybean</i>	Girassol <i>Sunflower</i>	Canola <i>Rapeseed</i>	Linhaça <i>Linseed</i>	Visceras <i>Poultry Offal</i>
14:0	ND	ND	ND	ND	0,35
14:n-7	ND	ND	ND	ND	ND
16:0	11,03	8,32	4,42	6,14	21,75
16:n-9	ND	ND	ND	ND	0,33
16:n-7	ND	ND	ND	ND	6,19
18:0	4,76	4,19	2,59	4,32	5,90
18:n-9	24,79	29,93	67,73	16,47	48,12
18:n-7	2,25	1,49	0,47	1,40	0,05
18:2n-6	52,91	54,58	20,54	14,72	16,37
20:0	0,53	0,58	1,04	0,58	0,27
18:3n-3	3,73	0,91	3,21	56,37	0,67
Total	100	100	100	100	100

¹ Dados obtidos com base na porcentagem de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais.¹ Data based in percentage of each fatty acid in relation of total lipids

ND – não- detectado; ND – no detected

TABELA 4. Perfil de ácidos graxos das rações experimentais utilizadas na fase inicial (1-21 dias de idade)¹

Table 4. Fatty acids profile of experimental diets used in starting phase (1 to 21 days of age)

Ácidos graxos <i>Fatty acids</i>	Soja <i>Soybean</i>	Girassol <i>Sunflower</i>	Canola <i>Rapeseed</i>	Linhaça <i>Linseed</i>	Visceras <i>Poultry Offal</i>
14:0	0,70	0,57	0,32	0,33	0,34
14:n-7	ND	ND	ND	ND	0,14
16:0	10,63	9,59	6,08	8,15	17,67
16:n-9	ND	ND	ND	ND	1,14
16:n-7	ND	ND	ND	ND	3,22
18:0	3,96	3,71	13,24	9,09	6,05
18:n-9	27,15	30,11	45,33	26,96	32,59
18:n-7	2,09	1,78	0,14	ND	ND
18:2n-6	52,47	52,64	31,91	29,32	37,42
20:0	0,47	0,50	0,96	0,35	0,30
18:3n-3	2,53	1,10	2,02	25,80	1,13
AGPI	55,00	53,74	33,93	55,12	38,55
AGMI ²	29,24	31,89	45,47	26,96	37,09
AGS	15,76	14,37	20,6	17,92	24,36
TOTAL	100	100	100	100	100
n-6	52,47	52,64	31,91	29,32	37,42
n-3	2,53	1,1	2,02	25,8	1,13
AGPI/AGS ³	3,49	3,74	1,65	3,08	1,58
n-6/n-3 ⁴	20,74	47,85	15,80	1,14	33,12

¹ Dados obtidos com base na porcentagem de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais.¹ Data based in percentage of each fatty acid in relation of total lipids² AGMI: ácidos graxos monoinsaturados² AGMI: monounsaturated fatty acids³ AGPI/AGS: Relação ácidos graxos poliinsaturados: ácidos graxos saturados.³ AGPI/AGS: Ratio of polyunsaturated fatty acids: saturated fatty acids⁴ n-6/n-3: Relação ácidos graxos ômega 6: ácidos graxos ômega 3.⁴ n-6/n-3: Ratio of omega 6: omega 3 fatty acids

ND - não-detectado; ND – no detected

TABELA 5. Perfil de ácidos graxos das rações experimentais utilizadas na fase de crescimento (22-42 dias de idade)¹

Table 5. Fatty acids profile of experimental diets used in growing phase (22 to 42 days of age)

Ácidos graxos <i>Fatty acids</i>	Soja <i>Soybean</i>	Girassol <i>Sunflower</i>	Canola <i>Rapeseed</i>	Linhaça <i>Linseed</i>	Visceras <i>Poultry Offal</i>
14:0	0,52	0,32	0,31	0,40	0,55
14:n-7	0,61	0,36	0,31	0,22	0,55
16:0	11,63	12,98	17,98	11,52	18,08
16:n-9	ND	ND	ND	ND	0,20
16:n-7	ND	ND	ND	ND	3,23
18:0	4,19	3,90	5,52	4,75	6,20
18:n-9	26,09	23,83	42,38	20,68	37,48
18:n-7	1,64	1,61	2,67	1,10	2,30
18:2n-6	51,90	53,86	26,92	26,35	29,57
20:0	0,48	0,91	1,04	0,35	0,50
18:3n-3	2,94	2,23	2,87	34,63	1,34
AGPI	54,84	56,09	29,79	60,98	30,91
AGMI ²	28,34	25,80	45,36	22,00	43,76
AGS	16,82	18,11	24,85	17,02	25,33
TOTAL	100	100	100	100	100
n-6	51,90	53,86	26,92	26,35	29,57
n-3	2,94	2,23	2,87	34,63	1,34
AGPI/AGS ³	3,26	3,10	1,20	3,58	1,22
n-6/n-3 ⁴	17,65	24,15	9,38	0,76	22,07

¹ Dados obtidos com base na percentagem de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais.

² Data based in percentage of each fatty acid in relation of total lipids

³ AGMI: ácidos graxos monoinsaturados

⁴ AGMI: monounsaturated fatty acids

³ AGPI/AGS: Relação ácidos graxos poliinsaturados: ácidos graxos saturados.

³ AGPI/AGS: Ratio of polyunsaturated fatty acids: saturated fatty acids

⁴ n-6/n-3: Relação ácidos graxos ômega 6: ácidos graxos ômega 3.

⁴ n-6/n-3: Ratio of omega 6: omega 3 fatty acids

ND – não-detectado; ND – no detected

De acordo com resultados obtidos, observou-se que as rações experimentais apresentaram o perfil de ácidos graxos de acordo com a composição lipídica do óleo a elas adicionado. Os ácidos linolêico (18:2n-6) e α -linolênico (18:3n-3), que são precursores dos ácidos araquidônico (20:4n-6) e eicosapentaenóico – EPA (20:5n-3), docosapentaenóico – DPA (22:5n-3), docosaheptaenóico – DHA (22:6n-3), respectivamente, foram os representantes dos ácidos graxos das séries ômega 6 e 3 encontrados em maiores proporções nas rações experimentais.

Os resultados referentes à porcentagem de área dos ácidos graxos ômega 6 determinados no osso cortical da tíbia de frangos de corte para a fase inicial (1 a 21 dias de idade) são apresentados nas Figuras 1 e 2.

No período de 1 a 21 dias, a concentração de 18:2n-6 determinada na tíbia das aves alimentadas com rações que contém óleos de soja e de vísceras aumentou linearmente ($P<0,05$), enquanto que aquelas que receberam óleos de girassol, canola e linhaça apresentaram comportamento quadrático ($P<0,05$) na incorporação desse ácido graxo no osso cortical, com maiores porcentagens alcançadas aos 21 dias de idade para o tratamento baseado em óleo de girassol.

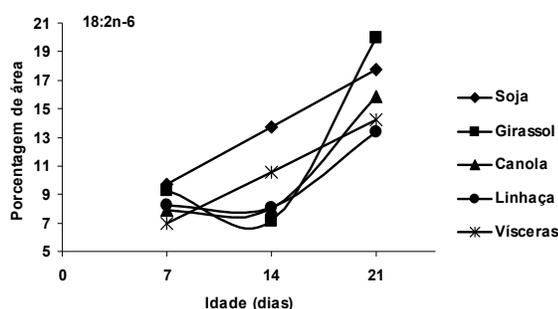


FIGURA 1. Porcentagem de área do ácido linoléico (18:2n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 1. Linoleic acid (18:2n-6) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data obtained in relation of total lipids).

Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 5,71281 + 0,57249 * I$ ($R^2=0,98$); Girassol (Sunflower) – $\hat{Y} = 26,5099 - 3,53327 * I + 0,153443 * I^2$ ($R^2=0,99$); Canola (Rapeseed) – $\hat{Y} = 15,6044 - 1,655604 * I + 0,0793588 * I^2$ ($R^2=0,99$); Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 13,9842 - 1,21799 * I + 0,0566631 * I^2$ ($R^2=0,99$); Visceras (Poultry Offal) – $\hat{Y} = 3,31445 + 0,51877 * I$ ($R^2=0,96$). I= idade (age)

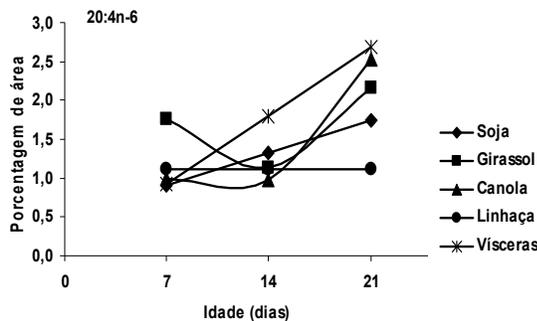


FIGURA 2. Porcentagem de área do ácido araquidônico (20:4n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, determinada no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 2. Arachidonic acid (20:4n-6) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data obtained in relation of total lipids).

Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 0,482182 + 0,0605058 * I$ ($R^2 = 0,84$); Girassol (Sunflower) – $\hat{Y} = 4,0624 - 0,446742 * I + 0,016962 * I^2$ ($R^2 = 0,99$); Canola (Rapeseed) – $\hat{Y} = 2,56516 - 0,336171 * A8 + 0,0159413 * I^2$ ($R^2 = 0,99$); Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 1,1250$; Visceras (Poultry Offal) – $\hat{Y} = 0,0343959 + 0,126103 * I$. ($R^2 = 0,87$). I = idade (age)

Esse mesmo comportamento foi observado para o 20:4n-6 (produto das reações de alongamento e insaturação do ácido linolêico) em quase todos os tratamentos estudados, com exceção para aquele que contém óleo de linhaça que, em função de apresentar menor concentração de 18:2n-6 em sua composição, manteve constante e baixa a proporção de 20:4n-6 no osso por todo o período inicial. Aos 21 dias de idade, o tratamento que contém óleo de vísceras exibiu maiores valores ($P < 0,05$) de 20:4n-6 nos ossos das aves quando comparado aos outros tratamentos experimentais.

Os resultados referentes à porcentagem de área dos ácidos graxos ômega 3 determinados no osso cortical da tíbia de frangos de corte na fase inicial (1 a 21 dias de idade) são apresentados nas Figuras 3, 4, 5 e 6.

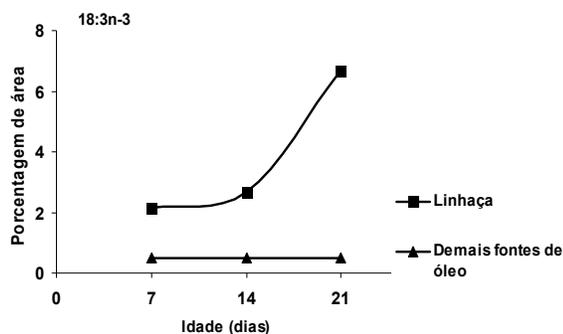


FIGURA 3. Porcentagem de área do ácido linolênico (18:3n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 3. *Linolenic acid (18:3n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data obtained in relation of total lipids).*

Demais fontes de óleo (others oil sources) – $\hat{Y} = 0,5020$; Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 5,11368 - 0,6703168 * I + 0,0354869 * I^2$ ($R^2 = ,99$). I = idade (age)

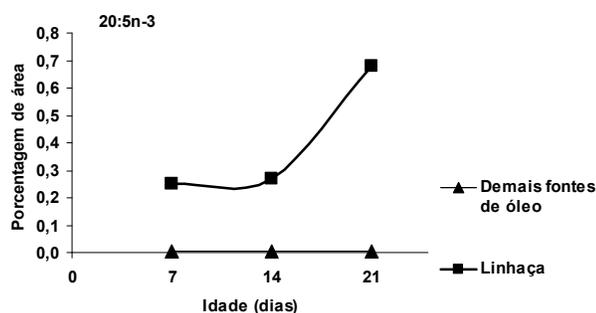


FIGURA 4. Porcentagem de área do ácido eicosapentaenóico (20:5n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 4. *Eicosapentaenoic acid (20:5n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data obtained in relation of total lipids).*

Demais fontes de óleo (others oil sources) – $\hat{Y} = 0,0030$; Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 0,626435 - 0,0819973 * I + 0,00402825 * I^2$ ($R^2 = 0,67$). I = idade (age)

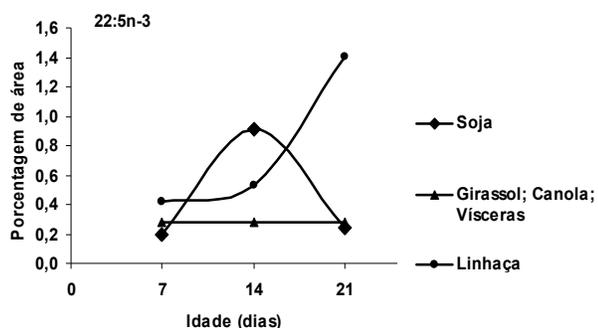


FIGURA 5. Porcentagem de área do ácido docosapentaenóico (22:5n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 5. Docosapentaenoic acid (22:5n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data obtained in relation of total lipids).

Soja (Soybean) – $\hat{Y} = -1,88405 + 0,39583 * I - 0,0140326 * I^2$ ($R^2=0,99$); Girassol (Sunflower), Canola (Rapeseed) e Visceras (Poultry Offal) – $\hat{Y} = 0,2786$; Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 1,0762 - 0,149441 * I + 0,00787121 * I^2$ ($R^2=0,99$). I = idade (age)

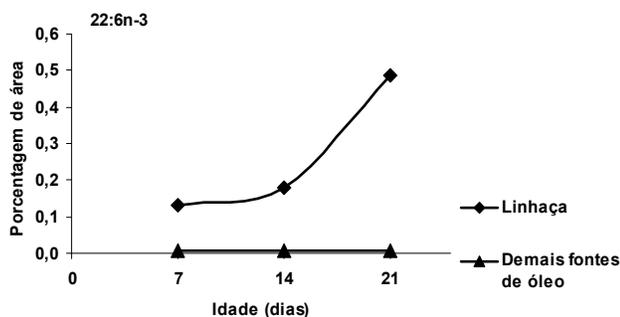


FIGURA 6. Porcentagem de área do ácido docosahexaenóico (22:6n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 6. Docosahexaenoic acid (22:6n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data obtained in relation of total lipids).

Demais fontes de óleo (others oil sources) – $\hat{Y} = 0,0061$; Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 0,347075 - 0,0495206 * I + 0,00267662 * I^2$ ($R^2=0,99$). I = idade (age)

O comportamento de incorporação dos ácidos graxos ômega 3 foram semelhantes na fase inicial, com as maiores concentrações de 18:3n-3 e de 20:5n-3, 22:5n-3 e 22:6n-3, produtos de reações de alongamento e insaturação do ácido linolênico, nos ossos das aves alimentadas com óleo de linhaça aos 21 dias de idade. Entretanto, o ácido graxo 22:5n-3 diferiu dos outros ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3 pelo fato de,

aos 14 dias de idade, as aves alimentadas com óleo de soja apresentarem maiores concentrações desse ácido graxo em sua composição óssea.

Os resultados encontrados sugerem que o enriquecimento das dietas com diferentes fontes de óleo, ricas em ácidos graxos poliinsaturados das séries ômega 3 e 6, promovem modificações na composição lipídica das células ósseas das aves. Entretanto, os dados observados demonstraram que as mudanças só foram evidentes a partir do 14 dias, estando de acordo com Liu e Denbow (2001) que relataram que o perfil de ácidos graxos da ração tem influência sobre a composição lipídica dos ossos, contudo, durante o período pós-eclosão, as aves refletem no tecido ósseo o perfil lipídico das rações fornecidas às matrizes por cerca de uma semana, diminuindo com a idade e desaparecendo completamente com duas semanas de idade.

O total dos ácidos graxos ômega 6 e 3 e a relação entre os ácidos graxos poliinsaturados e os saturados no osso cortical da tíbia de frangos de corte, para a fase inicial (1 a 21 dias de idade) estão apresentados nas Figuras 7, 8 e 9.

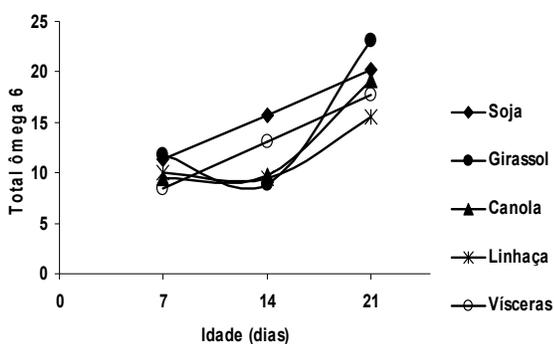


FIGURA 7. Total de ácidos graxos ômega 6 determinado na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos com base da porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais).

Figure 7. Total omega 6 fatty acids determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data based in percentage area of each fatty acid in relation of total lipids).

Soja (*Soybean*) – $\hat{Y} = 6,79875 + 0,640441 * I$ ($R^2=0,97$); Girassol (*Sunflower*) – $\hat{Y} = 31,6704 - 4,05444 * I + 0,173606 * I^2$ ($R^2=0,99$); Canola (*Rapeseed*) – $\hat{Y} = 18,1426 - 1,90285 * I + 0,0929302 * I^2$ ($R^2=0,99$); Linhaça (*Linseed*) – $\hat{Y} = 16,8882 - 1,44768 * I + 0,0657781 * I^2$ ($R^2=0,99$); Visceras (*Poultry Offal*) – $\hat{Y} = 3,8017 + 0,665828 * I$ ($R^2=0,95$). I = idade (age).

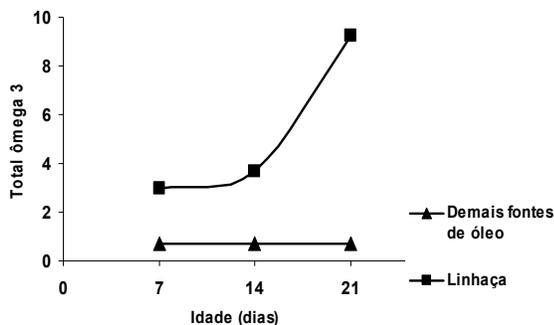


FIGURA 8. Total de ácidos graxos ômega 3 determinado na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos com base da porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais).

Figure 8. Total omega 3 fatty acids determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data based in percentage area of each fatty acid in relation of total lipids). Demais fontes de óleo (others oil sources) – $\hat{Y} = 0,7056$; Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 7,16339 - 0,951273 * I + 0,0500629 * I^2$ ($R^2=0,99$). I = idade (age).

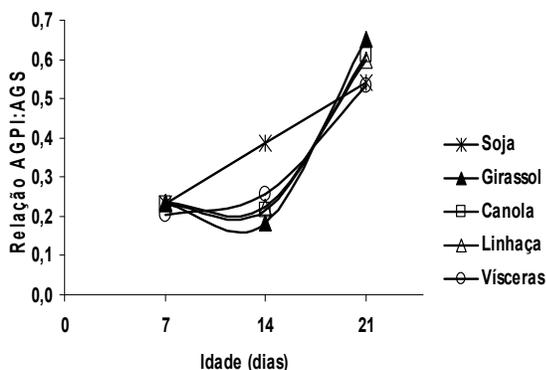


FIGURA 9. Relação ácidos graxos poliinsaturados: ácidos graxos saturados determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais).

Figure 9. Polyunsaturated fatty acid: saturated fatty acid ratio determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data based in percentage area of each fatty acid in relation of total lipids).

Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 0,0786781 + 0,0220351 * I$ ($R^2=0,97$); Girassol (Sunflower) – $\hat{Y} = 0,793266 - 0,117019 * I + 0,00525383 * I^2$ ($R^2= 0,99$); Canola (Rapeseed) – $\hat{Y} = 0,662095 - 0,0910553 * I + 0,00422049 * I^2$ ($R^2=0,99$); Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 0,635783 - 0,084626 * I + 0,00394472 * I^2$ ($R^2=0,99$); Visceras (Poultry Offal) – $\hat{Y} = 0,371776 - 0,0399338 * I + 0,00227099 * I^2$ ($R^2=0,99$). I = idade (age)

O total de ácidos graxos ômega 6 e 3 no osso cortical da tibia foi superior ($P < 0,05$) para os tratamentos que contém óleo de girassol e de linhaça, aos 21 dias de

idade. Esse resultado é condizente com as maiores proporções de 18:2n-6 e 18:3n-3 determinadas nas rações e nos ossos dos frangos alimentados com essas fontes de óleo, respectivamente, nessa mesma fase.

De uma maneira geral, os resultados demonstraram que as aves alimentadas com rações ricas em 18:2n-6 e 18:3n-3 apresentaram maiores concentrações desses ácidos graxos, assim como de seus produtos das reações de alongamento e insaturação, respectivamente, no osso cortical da tíbia aos 21 dias de idade.

O aumento na incorporação de 20:5n-3, 22:5n-3 e 22:6n-3 nas membranas das células ósseas quando foram fornecidas às aves dietas que contém óleo de linhaça, poderia ser um indicativo da provável competição entre os ácidos graxos linolêico e α -linolênico pela enzima Δ^6 -desaturase, que suprime a produção dos ácidos graxos de cadeia longa da série ômega 6 e, conseqüentemente, aumenta a concentração de EPA, DPA e DHA nos ossos das aves.

Considerando que as enzimas envolvidas nos processos de insaturação e alongamento da cadeia são as mesmas, a concorrência entre os ácidos 18:2n-6 e 18:3n-3 está determinada pela afinidade da enzima Δ^6 -desaturase por ambos ácidos graxos. A enzima Δ^6 -desaturase é a limitante da seqüência de reações de alongamento e insaturação e sua ordem de preferência em relação ao substrato é: ácido linolênico > ácido linolêico > ácido oléico (Liu, 2000). Com isso, a incorporação de 18:3n-3 suprime a formação de ácido 20:4n-6 pela provável competição com o ácido linolêico pela Δ^6 -desaturase (Watkins et al., 1991). Como a enzima tem maior especificidade pelos ácidos graxos ômega 3, menores quantidades destes ácidos são necessários para produzir a mesma quantidade de produto quando comparados aos ômega 6 (Madsen et al., 1999).

Na fase inicial, a relação entre os ácidos graxos poliinsaturados e os saturados progrediu de forma quadrática para quase todos os tratamentos, com exceção para o

óleo de soja, com maiores valores obtidos para o tratamento à base de óleo de girassol, aos 21 dias idade. Esses dados confirmam que a incorporação dos ácidos graxos no tecido ósseo está de acordo com os valores estabelecidos nas rações experimentais.

No período de 1 a 21 dias de idade, a composição de ácidos graxos do tecido ósseo das aves foi modificada pelos lipídios dietéticos, corroborando com os resultados encontrados por Watkins et al. (1996 e 1997), Liu & Denbow (2001) e Liu et al. (2003).

Os resultados referentes à porcentagem de área dos ácidos graxos ômega 6 determinada no osso cortical da tíbia de frangos de corte, para a fase de 22 a 42 dias de idade, são apresentados nas Figuras 10 e 11.

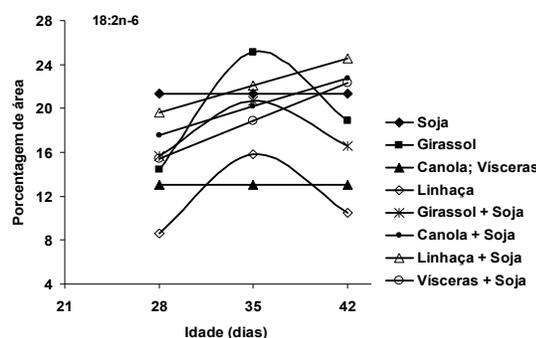


FIGURA 10. Porcentagem de área do ácido linoléico (18:2n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 22 aos 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 10. *Linoleic acid (18:2n-6) percentage area determined in broilers tibia in the period of 22 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids).*

Soja (*Soybean*) - $\hat{Y} = 21,3482$; Girassol (*Sunflower*) - $\hat{Y} = -197,08 + 12,378 * I - 0,172286 * I^2$ ($R^2=0,99$); Canola (*Rapeseed*) e Visceras (*Poultry Offal*) - $\hat{Y} = 13,0398$; Linhaça (*Linseed*) - $\hat{Y} = -146,383 + 9,13969 * I - 0,128683 * I^2$ ($R^2=0,99$); Girassol (*Sunflower*) + Soja (*Soybean*) - $\hat{Y} = -96,6092 + 6,63909 * I - 0,0939134 * I^2$ ($R^2=0,99$); Canola (*Rapeseed*) + Soja (*Soybean*) - $\hat{Y} = 7,35103 + 0,365775 * I$ ($R^2=0,70$); Linhaça (*linseed*) + Soja (*Soybean*) - $\hat{Y} = 9,71861 + 0,353301 * I$ ($R^2=0,75$); Visceras (*Poultry Offal*) + Soja (*Soybean*) - $\hat{Y} = 1,63381 + 0,492779 * I$ ($R^2=0,71$). I= idade (age).

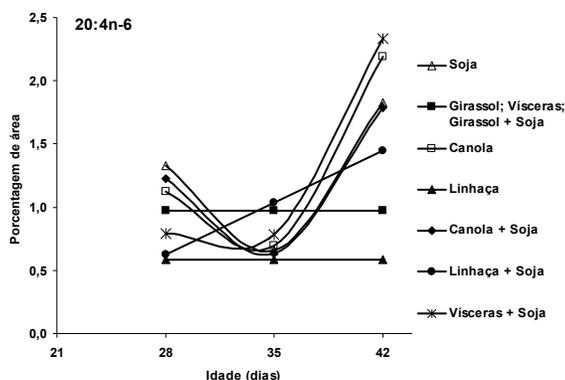


FIGURA 11. Porcentagem de área do ácido araquidônico (20:4n-6) determinada na tíbia de frangos de corte, determinada no período de 22 aos 42 dias de idade. (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 11. Arachidonic acid (20:4n-6) percentage area determined in broilers tibia in the period of 22 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids).

Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 22,3995 - 1,27802 * I + 0,0187669 * I^2$ ($R^2=0,99$); Girassol (Sunflower), Visceras (Poultry Offal) e Girassol (Sunflower) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 0,9718$; Canola (Rapessed) – $\hat{Y} = 21,9791 - 1,29272 * I + 0,0195631 * I^2$ ($R^2=0,99$); Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 0,5872$; Canola (Rapessed) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 21,099 - 1,20976 * I + 0,0178585 * I^2$ ($R^2=0,99$); Linhaça (Linseed) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = -1,02142 + 0,0587271 * I$ ($R^2=0,82$); Visceras (Poultry Offal) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 16,2739 - 0,99507 * I + 0,0157883 * I^2$ ($R^2=0,99$). I = idade (age).

Na fase de crescimento, o perfil de ácidos graxos poliinsaturados ômega 6, no osso cortical da tíbia, mostrou que as aves alimentadas com as mesmas fontes de óleo desde a fase inicial apresentaram concentração de 18:2n-6 similar ao encontrado nas rações experimentais, entretanto, os tratamentos que contém óleo de girassol e de linhaça manifestaram comportamento cúbico ($P < 0,05$) com aumento na concentração desse ácido graxo aos 35 dias e subsequente redução aos 42 dias de idade.

As aves que consumiram rações com óleos de canola, linhaça e vísceras durante fase inicial e depois passaram a receber óleo de soja apresentaram aumento linear ($P < 0,05$) na concentração de 18:2n-6 no período de crescimento, demonstrando que a mudança no perfil de ácidos graxos das rações foi refletida na composição lipídica dos ossos, nesse período. Contudo, o tratamento baseado em óleo de girassol (1-21 dias) e óleo de soja (22-42 dias) apresentou aumento ($P < 0,05$) na concentração desse ácido graxo aos 35 dias com posterior redução na sua concentração aos 42 dias de idade.

Considerando que as rações utilizadas nessa fase, que contém óleo de girassol, possuíam maiores concentrações de 18:2n-6 quando comparadas às outras rações experimentais; essa redução na concentração de 18:2n-6 pode ser explicada pela substituição dessa fonte pelo óleo de soja, já que as alterações na composição lipídica do tecido ocorrem gradativamente, de acordo com a fonte lipídica ingerida.

Para o ácido 20:4n-6, o tratamento baseado em óleo de linhaça, na fase inicial e óleo de soja na fase de crescimento, demonstrou resultados semelhantes aos encontrados para o ácido 18:2n-6. Esse comportamento, provavelmente, se deve ao fato das rações que contém óleo de linhaça apresentarem baixas concentrações de 18:2n-6 em sua composição e, conseqüentemente, com a mudança na fonte de óleo durante a fase de crescimento as alterações no perfil lipídico do osso ficaram mais evidentes do que os resultados obtidos para as outras fontes estudadas, tanto para o ácido 18:2n-6 quanto para o 20:4n-6.

As menores e maiores concentrações de 20:4n-6, incorporadas na tíbia das aves, foram obtidas para os tratamentos baseados em óleo de linhaça (1-42 dias) e de vísceras (1-21 dias) substituído pelo óleo de soja (22-42 dias), respectivamente, aos 42 dias de idade.

Os resultados referentes à porcentagem de área dos ácidos graxos ômega 3 determinada no osso cortical da tíbia de frangos de corte para a fase de crescimento (22 aos 42 dias de idade) são apresentados nas Figuras 12, 13, 14 e 15.

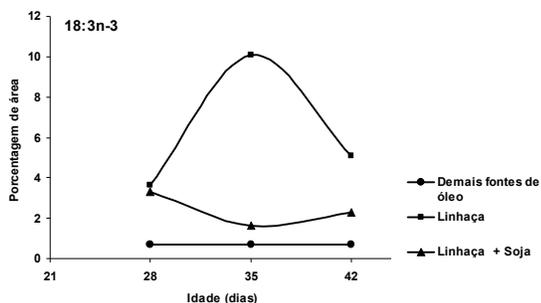


FIGURA 12. Porcentagem de área do ácido linolênico (18:3n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 22 aos 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 12. *Linolenic acid (18:3n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 22 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids).*

Demais fontes de óleo (others oil sources) – $\hat{Y} = 0,6863$; Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = -136,187+8,25402*I-0,116433*I^2$ ($R^2=0,99$); Linhaça (Linseed) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 32,8837-1,71089*I+0,0233837*I^2$ ($R^2=0,99$). I= idade (age).

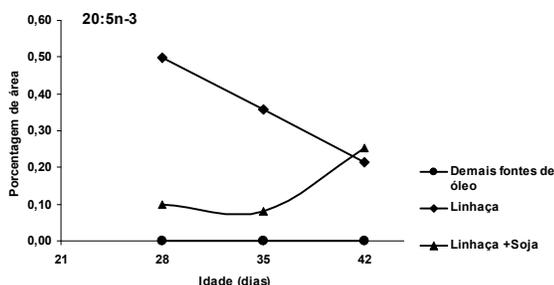


FIGURA 13. Porcentagem de área do ácido eicosapentaenóico (20:5n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 13. *Eicosapentaenoic acid (20:5n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 21 days of age (data obtained in relation of total lipids).*

Demais fontes de óleo (others oil sources) – $\hat{Y} = ND$ (not detected); Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = 1,0705-0,023976*I$ ($R^2=0,96$); Linhaça (Linseed) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 2,03505-0,122658*I+0,00191*I^2$ ($R^2=0,99$). I = idade (age)

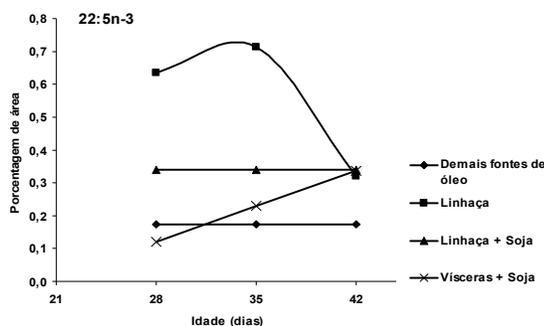


FIGURA 14. Porcentagem de área do ácido docosapentaenóico (22:5n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 22 aos 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 14. Docosapentaenoic acid (22:5n-3) percentage area determined in broilers in the period of 22 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids).

Demais fontes de óleo (others oil sources) - $\hat{Y} = 0,1752$; Linhaça (Linseed) - $\hat{Y} = -4,39646 + 0,314358 * I - 0,004481086 * I^2$ ($R^2=0,99$); Linhaça (Linseed) + Soja (Soybean) - $\hat{Y} = 0,3400$; Visceras (Poultry Offal) + Soja (Soybean) - $\hat{Y} = -0,316213 + 0,0158577 * I$ ($R^2=0,97$). I = idade (age).

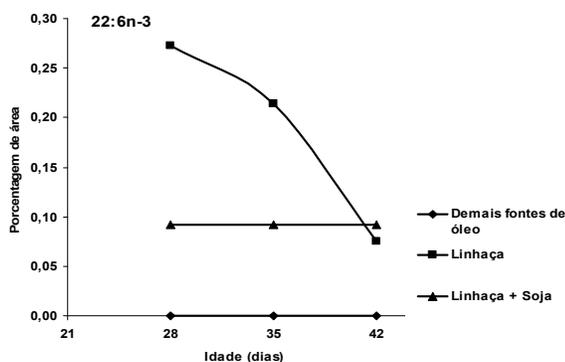


FIGURA 15. Porcentagem de área do ácido docosahexaenóico (22:6n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 22 aos 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 15. Docosahexaenoic acid (22:6n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 22 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids).

Demais fontes de óleo (others oil sources) - $\hat{Y} = \text{ND}$ (not detected); Linhaça - $\hat{Y} = -0,284023 + 0,0426086 * I - 0,000811091 * I^2$ ($R^2=0,99$); Linhaça (Linseed) + Soja (Soybean) - $\hat{Y} = 0,0920$. I = idade (age)

As aves que consumiram rações que contém óleo de linhaça, durante todo o período de criação, apresentaram comportamento quadrático ($P < 0,05$) para a concentração de 18:3n-3, 22:5n-3 e 22:6n-3 nos ossos, contudo, o ácido graxo 20:5n-3 reduziu linearmente ($P < 0,05$) durante a fase de crescimento. Aos 42 dias de idade, a concentração dos ácidos graxos oriundos das rações de alongamento e insaturação do

ácido α -linolênico nos ossos das aves, que receberam óleo de linhaça durante todo o período de crescimento e àquelas alimentadas com óleo de linhaça na fase inicial e óleo de soja na fase de crescimento, foram similares.

Esses resultados demonstram que a poliinsaturação dos ácidos graxos diminuiu com o avanço da idade. Segundo López-Ferrer et al. (2001), a maior ou menor abundância dos ácidos graxos de cadeia longa depende da necessidade do tecido em manter sua funcionalidade, portanto, considerando que na fase de 22 a 42 dias de idade a taxa de crescimento ósseo nos frangos torna-se mais lenta: esse fato poderia justificar a redução na incorporação dos ácidos graxos ômega 3 na tíbia das aves alimentadas com óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade.

Aos 42 dias, embora a concentração dos ácidos graxos de cadeia muito longa da série ômega 3 tenha reduzido nos ossos das aves que receberam os tratamentos baseados em óleo de linhaça durante o período de 1 a 42 dias de idade, os valores encontrados para o 18:3n-3 apresentaram-se superiores em relação às outras fontes de óleo estudadas, estando parcialmente de acordo com os encontrados por Watkins et al. (1997) e Liu & Denbow (2001).

O total de ácidos graxos ômega 6 e 3 e a relação entre os ácidos graxos poliinsaturados e os saturados no osso cortical da tíbia de frangos de corte para a fase de crescimento (22 a 42 dias de idade) estão apresentados nas Figuras 16, 17 e 18.

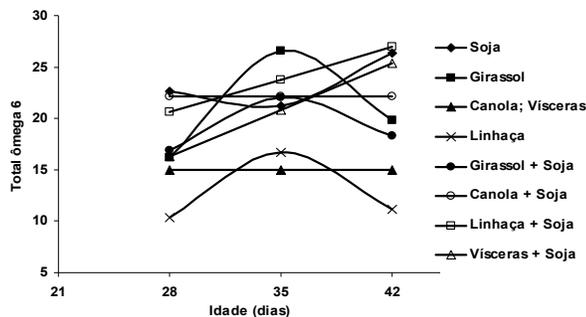


FIGURA 16. Total de ácidos graxos ômega 6 determinado na tibia de frangos de corte, no período de 22 aos 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais).

Figure 16. Total omega 6 fatty acids determined in the tibia of broilers in the 22 to 42 days phase (data obtained with base in area percentage of each fatty acid in relation total lipids).

Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 93,6958 - 4,40849 * I + 0,0668158 * I^2$ ($R^2 = 0,99$); Girassol (Sunflower) – $\hat{Y} = -196,362 + 12,4774 * I - 0,174536 * I^2$ ($R^2 = 0,99$); Canola (Rapeseed); Visceras (Poultry Offal) – $\hat{Y} = 14,9586$; Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = -134,369 + 8,5767 * I - 0,121739 * I^2$ ($R^2 = 0,99$); Girassol (Sunflower) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = -93,2343 + 6,48598 * I - 0,0911866 * I^2$ ($R^2 = 0,95$); Canola (Rapeseed) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 22,1760$ ($R^2 = 0,95$); Linhaça (Linseed) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 7,84982 + 0,455372 * I$ ($R^2 = 0,88$); Visceras (Poultry Offal) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = -1,88411 + 0,648591 * I$ ($R^2 = 0,88$). I = idade (age).

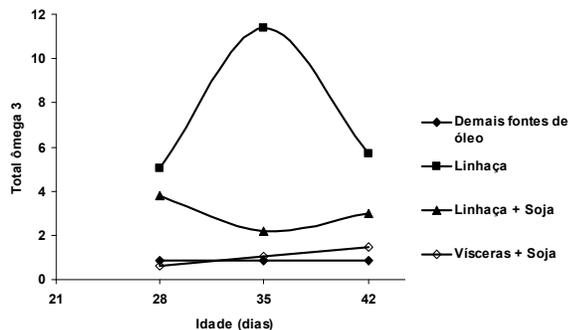


FIGURA 17. Total de ácidos graxos ômega 3 determinado na tibia de frangos de corte, no período de 22 aos 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais).

Figure 17. Total omega 3 fatty acids determined in broilers tibia in the period of 22 to 42 days of age (data based in percentage area of each fatty acid in relation of total lipids).

Demais fontes de óleo (others oil sources) – $\hat{Y} = 0,8751$; Linhaça (Linseed) – $\hat{Y} = -141,036 + 8,66332 * I - 0,123094 * I^2$ ($R^2 = 0,99$); Linhaça (Linseed) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = 34,4719 - 1,79005 * I + 0,0247821 * I^2$ ($R^2 = 0,99$); Visceras (Poultry Offal) + Soja (Soybean) – $\hat{Y} = -1,06724 + 0,059872 * I$ ($R^2 = 0,98$). I = idade (age).

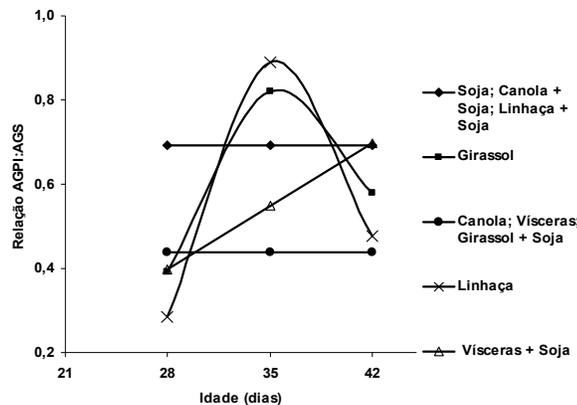


FIGURA 18. Relação ácidos graxos poliinsaturados: ácidos graxos saturados determinada na tibia de frangos de corte, determinada no período de 22 aos 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais).

Figure 18. Polyunsaturated fatty acids: saturated fatty acids ratio determined in broilers tibia in the period of 22 to 42 days of age (data based in percentage area of each fatty acid in relation of total lipids).

Soja (Soybean), Canola (Rapeseed) + Soja (Soybean), Linhaça (Linseed) + Soja (Soybean) - $\hat{Y} = 0,6915$; Girassol (Sunflower) - $\hat{Y} = -8,00591 + 0,491075 * I - 0,00682588 * I^2$ ($R^2=0,99$); Canola (Rapeseed), Visceras (Poultry Offal), Girassol (Sunflower) + Soja (Soybean) - $\hat{Y} = 0,4376$; Linhaça (Linseed) - $\hat{Y} = -12,3187 + 0,741143 * I - 0,0103923 * I^2$ ($R^2=0,99$); Visceras (Poultry Offal) + Soja (Soybean) - $\hat{Y} = -0,201581 + 0,021425 * I$ ($R^2=0,80$). I = idade (age)

No período de crescimento, os resultados obtidos para o total de ácidos graxos ômega 3 e 6 foram semelhantes àqueles determinados para os ácidos graxos 18:2n-6 e 18:3n-3, com maiores valores para os tratamentos baseados em óleo de linhaça (fase inicial) e soja (fase crescimento) e óleo de linhaça (período total), respectivamente, aos 42 dias de idade.

A relação entre os ácidos graxos poliinsaturados e os saturados, determinada na tibia das aves, apresentou um comportamento quadrático ($P < 0,05$) para os tratamentos baseados nos óleos de girassol e linhaça (período total) e linear crescente ($P < 0,05$) para o óleo de vísceras (fase inicial) e soja (fase de crescimento). Já, os tratamentos que contém os óleos de soja, canola e vísceras (período total) e aqueles baseados nos óleos de canola, linhaça e girassol (fase inicial) substituídos pelo óleo de soja (fase de crescimento) permaneceram constantes durante todo o período de 22 a 42 dias de idade.

Os maiores valores, aos 42 dias de idade, foram obtidos com óleo de soja (período total) e os óleos de canola, linhaça e vísceras (fase inicial) substituídos pelo óleo de soja (fase de crescimento), demonstrando que essa variável refletiu as mudanças ocorridas no perfil lipídico das rações.

Os resultados demonstraram que, no período de 22 a 42 dias de idade, a composição de ácidos graxos do tecido ósseo das aves foi modificada pelos lipídios contidos nas rações experimentais, conforme verificado na fase inicial.

A análise de componentes principais reproduziu o perfil de ácidos graxos no osso cortical da tíbia das aves durante o período total de criação (1 a 42 dias de idade) e está apresentada na Figura 19.

Considerando a associação dos ácidos graxos ômega 6 com o componente principal 2 (CP2) e dos ácidos graxos ômega 3 com o componente principal 1 (CP1), os resultados demonstraram que os tratamentos baseados no óleo de soja (1-42 dias) e nos óleos de girassol, canola e vísceras (1-21 dias) substituídos pelo óleo de soja (22-42 dias) apresentaram valores positivos e negativos para o CP1 e o CP2, respectivamente. Esses dados demonstram que a adição de óleo de soja às rações alterou a composição lipídica do osso em virtude da maior concentração de ômega 6 e que o perfil de ácidos graxos dos ossos foi reflexo das rações durante todo o período analisado.

Os tratamentos que contém óleo de canola (1-42 dias) e óleo de vísceras (1-42 dias) apresentaram valores negativos para o CP1 e o CP2. Ao comparar o perfil lipídico das rações baseadas nessas fontes, observou-se que as concentrações do ácido oléico e dos ácidos graxos saturados se destacavam quando comparados aos demais tratamentos, o que pode explicar os resultados obtidos nessa análise. O óleo de girassol (1-42 dias) apresentou comportamento semelhante, contudo, o valor negativo do CP2 foi inferior quando comparada a esses tratamentos.

O tratamento baseado em óleo de linhaça (1-42 dias) apresentou valor positivo para o CP1 e valor negativo para o CP2, mostrando que a alteração do perfil de ácidos graxos se deve à concentração de ômega 3 em virtude da adição de óleo de linhaça à ração. Entretanto, os resultados demonstraram que o fornecimento de óleo de linhaça na fase inicial e a posterior mudança para o óleo de soja na fase de crescimento refletiu sobre a composição lipídica do osso, visto que, esse tratamento passou a apresentar valores positivos para o CP1 e o CP2.

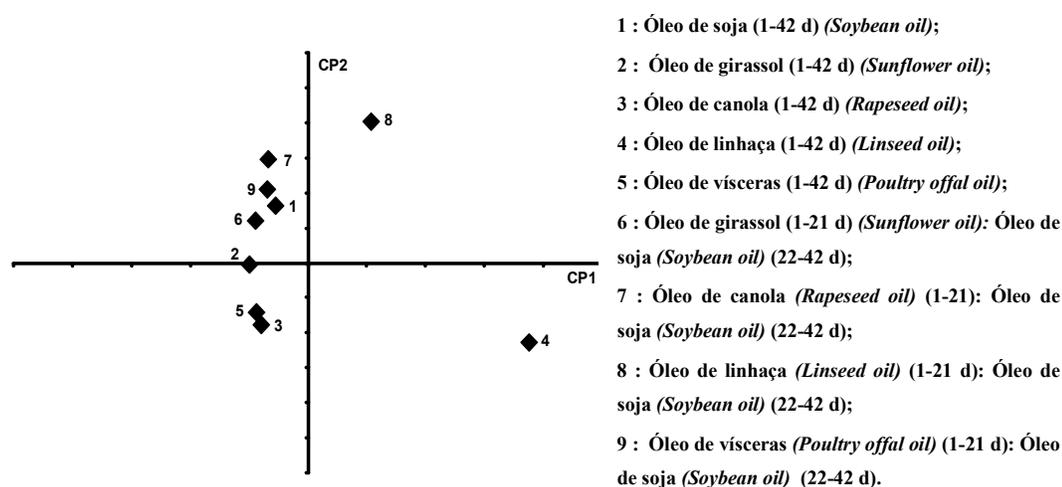


FIGURA 19. Agrupamento das diferentes fontes de óleo de acordo com os dois primeiros componentes principais baseados no perfil de ácidos graxos da tíbia de frangos de corte, de 1 a 42 dias de idade.

Figure 19. Different oil sources grouping according to the two first mainly components based in fatty acid profile of broilers tibia with 1 to 42 days of age.

A influência dos diferentes tipos de ácidos graxos sobre a concentração de prostaglandina E₂ (PGE₂), determinada na porção cortical da tíbia de frangos aos 21 e 42 dias de idade, está apresentada na Tabela 6.

TABELA 6. Valores médios referentes à concentração de prostaglandina E₂ (PGE₂) determinada na tíbia de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de óleo, aos 21 e 42 dias de idade

Table 6. Means of prostaglandin (PGE₂) concentration determined in broilers tibia, fed with different oil sources at 21 and 42 days of age

Tratamentos <i>Treatments</i>	Prostaglandina (ng/ g osso) ¹ <i>Prostaglandin (ng/ g bone)</i>
	21 dias <i>21 days</i>
Óleo de soja (1-42 dias) <i>Soybean Oil</i>	55,41 ^{cd}
Óleo de girassol (1-42 dias) <i>Sunflower Oil</i>	136,45 ^a
Óleo de canola (1-42 dias) <i>Rapeseed Oil</i>	76,42 ^{bc}
Óleo de linhaça (1-42 dias) <i>Linseed Oil</i>	42,08 ^d
Óleo de vísceras (1-42 dias) <i>Poultry Offal Oil</i>	102,28 ^{ab}
	42 dias <i>42 days</i>
Óleo de soja (1-42 dias) <i>Soybean Oil</i>	74,37
Óleo de girassol (1-42 dias) <i>Sunflower Oil</i>	61,40
Óleo de canola (1-42 dias) <i>Rapeseed Oil</i>	132,16
Óleo de linhaça (1-42 dias) <i>Linseed Oil</i>	46,19
Óleo de vísceras (1-42 dias) <i>Poultry Offal Oil</i>	126,52
Óleo de girassol (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Sunflower Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	102,40
Óleo de canola (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Rapeseed Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	62,52
Óleo de linhaça (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Linseed Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	133,01
Óleo de vísceras (1-21 dias): óleo de soja (22-42 dias) <i>Poultry Offal Oil (1-21 days): Soybean Oil (22-42 days)</i>	74,68

¹ $Y \sim \text{gamma}$, em que $E(Y_{ij}) = (\eta)^{-1}$

¹ $Y \sim \text{gamma}$, in that $E(Y_{ij}) = (\eta)^{-1}$

² Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferente pelo teste t de Student ($P < 0,05$)

² Means following by different letters in same column, differ by T test of Student ($P < 0.05$)

Aos 21 dias de idade, observou-se efeito dos diferentes tratamentos sobre a concentração de PGE₂ (ng/ g osso), e, as aves alimentadas com óleo de linhaça apresentaram menores valores ($P < 0,05$) na tíbia quando comparadas àquelas que receberam óleos de girassol, canola e vísceras, demonstrando que os lipídios da dieta podem influenciar sobre a produção de prostaglandina nos ossos.

Ao comparar a concentração de PGE₂ determinada para o tratamento à base de óleo de vísceras, verificou-se que esta não diferiu ($P>0,05$) daqueles contendo óleo de girassol e de canola e, da mesma forma, esse último foi semelhante ($P>0,05$) ao valor encontrado para o óleo de soja.

A prostaglandina E₂ é produzida pela oxigenação do ácido 20:4n-6 e a concentração desse ácido graxo foi superior na tíbia das aves que receberam os tratamentos que contém óleos de vísceras, canola e de girassol, durante a fase inicial, que confirma a relação existente entre dietas enriquecidas com ácidos graxos ômega 6 e maiores concentrações de PGE₂ nos ossos, conforme observado por Liu & Denbow (2001).

O tratamento baseado em óleo de linhaça promoveu maiores concentrações de 20:5n-3 na tíbia das aves, sendo este ácido graxo conhecido como precursor do leucotrieno-5 (LT₅) e da prostaglandina E₃ (PGE₃) (Calder, 1998). Os ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 agem de duas formas no controle da quantidade dos eicosanóides produzidos pelos ácidos graxos ômega 6: pela redução na taxa de formação dos eicosanóides por meio da competição na incorporação nos tecidos ou pela formação de eicosanóides fracos que competem pelos sítios receptores das células e diminuem os sinais dos eicosanóides derivados dos ácidos graxos ômega 6 (Watkins et al., 2000b).

Embora a concentração de PGE₂ obtida para o tratamento com óleo de linhaça tenha sido reduzida, essa não diferiu ($P>0,05$) daquela verificada para o óleo de soja, discordando dos observados por Watkins et al. (1996) ao compararem o efeito de fontes enriquecidas com ácidos graxos ômega 3 e 6 sobre a concentração de PGE₂ nos ossos de frangos de corte.

Esse fato pode estar correlacionado com a incorporação de 20:4n-6 nas células ósseas, visto que, as concentrações desse ácido graxo na tíbia das aves que receberam os tratamentos baseados em óleo de linhaça e soja foram próximas. Dessa forma, embora o óleo de linhaça tenha promovido maior incorporação de 20:5n-3 nos ossos, a redução na concentração do 20:4n-6 pode não ter sido suficiente para modular a síntese de PGE₂ pelas células ósseas. Além disso, o *kit* utilizado no ensaio, para a determinação da concentração de PGE₂ no sobrenadante das culturas de células ósseas, apresenta em torno de 43% de reatividade para a PGE₃, produzida a partir do ácido eicosapentaenóico, o que poderia explicar as maiores concentrações de PGE₂ obtidas para o tratamento baseado em óleo de linhaça.

Aos 42 dias de idade, as aves alimentadas com diferentes fontes de óleo não apresentaram diferenças ($P>0,05$) em relação à concentração de PGE₂ nos ossos, diferindo dos encontrados por Liu et al. (2004).

Esses resultados sugerem que o impacto da manipulação dietética dos lipídios sobre a produção de PGE₂ nos ossos, é mais evidente na fase inicial de criação dos frangos, na qual a taxa de formação óssea é maior (Williams et al., 2000). Dessa forma, o uso de óleo de linhaça, nas rações no período de 1 a 21 dias e sua substituição pelo óleo de soja na fase de crescimento, poderia ser considerado uma prática interessante no que se refere à formação e manutenção da integridade óssea de frangos de corte.

Conclusões

O perfil lipídico das rações baseadas em diferentes fontes de óleo refletiu na composição de ácidos graxos na porção cortical da tíbia dos frangos, no período inicial e de crescimento.

A adição de óleo de linhaça às rações foi efetiva em promover maior incorporação de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa ômega 3 nos ossos, no período de 1 a 42 dias de idade, entretanto, a poliinsaturação dos ácidos graxos ômega 3 diminuiu com o avanço da idade, demonstrando que a incorporação desses ácidos graxos de cadeia longa depende da necessidade do tecido ósseo em frangos de corte.

A concentração de prostaglandina E₂ é determinada pela composição lipídica dos ossos das aves e a adição de fontes de óleo enriquecidas com ácidos graxos ômega 3 nas rações reduziu o nível de PGE₂ no tecido ósseo de frangos de corte, aos 21 dias de idade.

Literatura Citada

- BAIN, S.D.; WATKINS, B.A. Local modulation of skeletal growth and bone modeling poultry. **Journal of Nutrition**, v.123, n.2, p.317-322, 1993.
- 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.
- CALDER, P.C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.31, p.467-490, 1998.
- ISO INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Animal and vegetable fats and oils preparation of methyl esters of fatty acids. Geneve: ISO. Method ISO 5509, 1978. p. 1-6.
- LETERRIER, C.; NYS, Y. Composition, cortical structure and mechanical properties of chicken tibiotarsi: effect of growth rate. **British Poultry Science**, v.33, p.925-939, 1992.
- LI, Y.; WATKINS, B.A. Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E₂ biosynthesis in rats n-6 or n-3 fatty acids. **Lipids**, v.33, n.4, p.417-425, 1998.
- LILBURN, M. Skeletal growth of commercial poultry especies. **Poultry Science**, v.73, p.897-903, 1994.
- LIU, D. **The effects of dietary lipids on bone chemical, mechanical, and histological properties in japanese quail (*Coturnix c. japonica*)**. 2000. 148 f. Thesis (Doctor of Philosophy in Animal and Poultry Sciences - Nutrition and Physiology) - Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 2000.

- LIU, D.; VEIT, H.P.; WILSON, J.H. et al. Long-term supplementation of various dietary lipids alters bone mineral content, mechanical properties and histological characteristics of Japanese quail. **Poultry Science**, v.82, p.831-839, 2003.
- LIU, D.; DENBOW, D.M. Maternal dietary lipids modify composition of bone lipids and *ex vivo* prostaglandin E₂ production in early postnatal Japanese quail. **Poultry Science**, v.80, n.9, p.1344-1352, 2001.
- LIU, D.; VEIT, H.P.; DENBOW, D.M. Effects of long-term dietary lipids on matures bone mineral content, collagen, crosslinks, and prostaglandin E₂ production in Japanese quail. **Poultry Science**, v.83, p.1876-1883, 2004.
- LÓPEZ-FERRER, S.; BAUCCELLS, M.D.; BARROETA, A.C. et al. N-3 enrichment of chicken meat. 2. Use of precursors of long-chain polyunsaturated fatty acids: linseed oil. **Poultry Science**, v.80, p.753-761, 2001.
- MADSEN, L.; RUSTAN, A.C.; VAAGENES, H. et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. **Lipids**, v.34, p.951-963, 1999.
- MURAKAMI, A.; OVIEDO-RONDÓN, E.O.; MARTINS, E.N. et al. Sodium and chloride requirements of growing broiler chickens (twenty-one to forty-two days of age) fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, v.80, p.289-294, 2001.
- NELDER, J.A.; WEDDERBURN, W.M. Generalized linear models. **Journal Royal Statistic Society**, v.135, n.3, p.370-384, 1972.
- OVIEDO-RONDÓN E.O., MURAKAMI, A.E., FURLAN, A.C. et al. Sodium and chloride requirements of young broiler chickens fed corn-soybean diets (one to twenty-one days of age). **Poultry Science**, v.80, p.592-598, 2001.
- PRAUL, C.A.; FORD, B.C.; GAY, C.V.; PINES, M.; LEACH, R.M. Gene expression and tibial discondroplasia. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1009-1013, 2000.
- RATH, N.C.; BALOG, J.M.; HUFF, W.E. Comparative differences in the composition and biochemical properties of tibiae of seven- and seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v.78, p.1232-1239, 1999.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. 186p.
- WATKINS, B.A.; WHITEHEAD, C.C.; DUFF, S.R.I. Hydrogenated oil decreases tissue concentrations of n-6 polyunsaturated fatty acids and may contribute to dyschondroplasia. **British Poultry Science**, v.32, p.1109-1119, 1991.
- WATKINS, B.A.; SHEN, C.; ALLEN, K.G.D. et al. Dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated and acetylsalicylic acid alter *ex vivo* PGE₂ biosynthesis, tissue IGF-I levels, and bone morphometry in chicks. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.11, n.9, p.1321-1332, 1996.
- WATKINS, B.A.; SHEN, C.; McMURTRY, J.P. et al. Dietary lipids modulate bone prostaglandin E₂ production, insulin-like growth factor – I concentration and formation rate in chicks. **Journal of Nutrition**, v.127, n.6, p.1084-1091, 1997.
- 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, 2000a.

- WATKINS, B.A.; LI, Y.; SEIFERT, M.F. Dietary Omega-3 fatty acids and bone health. **Current Organic Chemistry**, v.4, p.1125-1144, 2000b.
- WATKINS, B.A.; LIPPMAN, H.E.; Le BOUTEILLER, L. et al. Bioactive fatty acids: role in bone biology and bone cell function. **Progress in Lipid Research**, v.40, p.125-148. 2001.
- WATKINS, B.A. **Longitudinal growth and modeling of bone**. Disponível em: <http://www.novusint.com/Public/Library/Techpaper.asp?ID=9ift.confex.com/ift/200/techprogram/paper_4941.htm>. Acesso em: 12 fev. 2003.
- WILLIAMS, B.; SOLOMON, S.; WADDINGTON, D. et al. Skeletal development in the meat-type chicken. **British Poultry Science**, v.41, p.141-149, 2000.
- 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.
- YALCIN, S.; ÖZKAN, S.; COSKUNER, E. et al. Effects of strain, maternal age and sex on morphological characteristics and composition of tibial bone in broilers. **British Poultry Science**, v.42, n.2, p.184-190, 2001.

V – Efeito da Inclusão de Óleo de Linhaça nas Rações sobre o Desempenho, os Parâmetros e a Composição Mineral Óssea de Frangos de Corte

RESUMO – O objetivo desse trabalho foi avaliar o desempenho, os parâmetros ósseos e a composição mineral de tíbias e fêmures de frangos de corte alimentados com rações que contém diferentes níveis de óleo de linhaça (OL), no período de 1 a 42 dias de idade. Na fase inicial e de crescimento (1 a 21 dias e 22 a 42 dias, respectivamente) foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições e 50 aves/unidade experimental, em que as aves receberam rações formuladas com níveis crescentes de OL (2,0; 3,5; 5,0 e 6,5%). Constatou-se efeito linear crescente ($P<0,05$) da adição de OL sobre o diâmetro e comprimento absoluto do fêmur e da tíbia, entretanto, apenas o peso absoluto do fêmur foi influenciado pela inclusão de óleo às rações. Os dados revelaram interação significativa entre idade e níveis de OL ($P<0,05$) para o índice de Seedor, demonstrando que os efeitos positivos e negativos dos maiores níveis de OL observados para o fêmur e a tíbia, respectivamente, foram potencializados no final da fase de crescimento. Os parâmetros de crescimento e de qualidade do fêmur e da tíbia apresentaram comportamento cúbico ($P<0,05$) em função da idade. O peso das cinzas do fêmur foi positivamente influenciado ($P<0,05$) pela adição crescente de OL nas rações, em todas as idades avaliadas. Resultados semelhantes foram observados para a concentração de cinzas, contudo, os melhores resultados foram evidenciados a partir dos 28 dias. A resistência óssea não foi influenciada pelos diferentes tratamentos ($P>0,05$), apresentando comportamento cúbico ($P<0,05$) em função da idade, porém, com o aumento do nível de OL nas rações observou-se melhoria linear ($P<0,05$) na densidade mineral óssea em todas as idades analisadas. Conclui-se que rações que contém 6,5% de óleo de linhaça são benéficas para o crescimento e mineralização dos ossos longos de frangos de corte.

Palavras-chave: cinzas, densidade mineral, fêmur, índice de Seedor, resistência à quebra, tíbia

Effect of Linseed Oil Inclusion in Diets on Performance, Bone Parameters and Mineral Composition of Broilers Chickens

ABSTRACT – The aim of this work was to evaluate the performance, bone parameters and mineral composition of tibia and femur of broilers chickens fed with diets with different linseed oil (LO) levels during the period of 1 to 42 days of age. In initial and growing phase (1 to 21 days and 22 to 42 days of age, respectively) a completely randomized design was used with five treatments, six replicates and 50 birds per experimental unit, in that birds received diets formulated with different LO levels (2.0; 3.5; 5.0 and 6.5%). It was observed a linear effect ($P < 0.05$) of oil addition on absolute diameter and length of tibia and femur, however, just the absolute femur weight was influenced by diets oil inclusion. The data revealed significant interaction between age and LO levels ($P < 0.05$) for Seedor index demonstrating that positive and negative effects of the largest LO levels observed for femur and tibia, respectively, were potentialized in the end of growth phase. The growth and quality parameters of femur and tibia presented a cubic behavior ($P < 0.05$) in function of age. The ash weight of femur was positively influenced ($P < 0.05$) by diets LO addition in all evaluated ages. Similar results were observed to ash concentration; however, the best results were evidenced after 28 days. The bone strength was not influenced ($P > 0.05$) by different treatments, showing a cubic behavior in function of age, however, with the increase of diets LO level a linear improvement was observed in bone mineral density in all analyzed ages. It was concluded that diets with 6.5% LO are beneficial for growth and mineralization of long bones broilers chicken.

Key words: ash, femur, mineral density, Seedor index, strength, tibia

Introdução

Durante os últimos anos, o desenvolvimento de aves de rápido ganho de peso e baixa conversão alimentar aliado a uma melhor nutrição e manejo, tem proporcionado consideráveis melhorias no desempenho dos frangos de corte. No entanto, é reconhecido que a seleção genética para o crescimento muscular tem resultado em um desequilíbrio no desenvolvimento de vários tecidos, causando aumento na demanda sobre a integridade do esqueleto (Williams et al., 2000) e o aparecimento de falhas esqueléticas associadas com o rápido crescimento longitudinal e diametral dos ossos longos nos frangos modernos (Williams et al., 2004).

O crescimento e desenvolvimento de uma estrutura esquelética sólida é um pré-requisito vital para uma ave que está primordialmente se desenvolvendo para a produção de carne. Dentro do setor de carnes da indústria avícola, as mudanças no crescimento e desenvolvimento da carcaça de linhagens comerciais têm sido grandes. Uma importante característica dos frangos modernos é a maior relação carne: osso e o maior número de carcaças sendo direcionadas para a desossa e conversão em produtos processados. Dessa forma, uma boa conformação da carcaça só é obtida de uma ave com boas condições e um esqueleto bem desenvolvido (Pattison, 1992).

Apesar das constantes pesquisas sobre o uso de alimentos não convencionais em rações de aves, as formulações são basicamente com milho e farelo de soja, principais fontes energética e protéica, respectivamente (Pucci et al., 2003). No entanto, para um melhor balanceamento energético, com o objetivo de atender o alto requisito nutricional dos frangos de corte, o uso de óleo vegetal ou gordura animal nas rações tem sido uma prática constante.

A ingestão de lipídios pelos animais apresenta uma importância fundamental não apenas por suprir as necessidades energéticas, mas também por atender os requisitos de ácidos graxos essenciais, necessários para um crescimento e desenvolvimento normal do animal, bem como o desempenho de diversas funções fisiológicas. Mas, trabalhos têm indicado que os lipídios dietéticos podem alterar a composição de ácidos graxos dos tecidos e influenciar sobre o metabolismo ósseo em aves (Watkins et al., 1996 e 1997).

De acordo com Liu & Denbow (2001), os ácidos graxos poliinsaturados são estruturais e fisiologicamente importantes para a mineralização e a regulação da modelagem óssea, uma vez que eles servem de substratos para síntese de diferentes substâncias, chamadas eicosanóides, que estariam envolvidas na regulação local do crescimento e desenvolvimento do osso (Watkins, 2002).

O ácido linolêico é convertido em ácido araquidônico no fígado das aves e é estocado nos fosfolipídios das membranas dos osteoblastos e condrócitos. Fatores sistêmicos (PTH) e localizados (citocinas e fatores de crescimento) podem estimular a liberação do ácido araquidônico, que serve de substrato para a síntese da PGE_2 (Watkins, 2003). Tanto a formação quanto a reabsorção óssea são influenciadas pela PGE_2 e este efeito sobre o osso pode ser dependente da sua concentração, ou seja, em altas concentrações, ela inibe a formação da matriz óssea, entretanto, em baixas concentrações a PGE_2 pode estimular a formação do osso (Liu & Denbow, 2001).

Dentre as fontes de óleos vegetais utilizadas na alimentação animal, o óleo de linhaça se caracteriza pela alta concentração de ácido linolênico, um ácido graxo poliinsaturado da série ômega 3 (Kratzer & Vohra, 2005), que compete com o ácido linolêico pelas enzimas hepáticas envolvidas nos processos de insaturação e alongamento da cadeia dos ácidos graxos, reduzindo a produção de ácido araquidônico e, conseqüentemente, a síntese de PGE_2 . Dessa forma, a ingestão de maiores

concentrações de óleos ricos em ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3 resulta em redução na incorporação de ácido araquidônico nas membranas e, concomitantemente, menor capacidade de síntese de eicosanóides provenientes desse ácido graxo (Calder, 1998).

Com base nessas considerações, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes níveis de inclusão de óleo de linhaça nas rações sobre o desempenho e os parâmetros de crescimento e qualidade óssea de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá – UEM. Foram utilizados 1500 pintos de um dia de idade (peso médio de 45g), machos, da linhagem Cobb-Vantress[®]. As aves foram alojadas em um galpão convencional dividido em boxes de 6,3 m² com cobertura de telha francesa e lanternin, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com tela de arame até o telhado, providas de cortinas laterais. Foi utilizada cama do tipo maravalha sobre o piso.

Na fase inicial foram utilizados comedouros do tipo bandeja e bebedouros do tipo copo de pressão até o quinto dia de idade, sendo os mesmos substituídos gradativamente pelos comedouros tubulares e bebedouros automáticos do tipo pendular. Em cada boxe, foram utilizados um círculo de proteção e uma campânula como fonte de aquecimento para os pintainhos. Água e ração foram fornecidas à vontade em um programa de alimentação dividido em duas fases, sendo a inicial do 1º aos 21 dias de idade, e a de crescimento/acabamento, dos 22 aos 43 dias de idade.

Foi adotado um programa contínuo de luz durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23 horas de luz/dia. As temperaturas médias dentro do galpão foram: máxima de $29,9 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e mínima de $22,6 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$; e umidade relativa média de $48,2 \pm 2,7\%$.

As aves receberam rações formuladas com diferentes níveis de inclusão de óleo de linhaça, sendo as mesmas distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições e 50 aves/unidade experimental, conforme descrito a seguir:

A – 2,0% de óleo de soja (controle);

B – 2,0% de óleo de linhaça;

C – 3,5% de óleo de linhaça;

D – 5,0% de óleo de linhaça;

E – 6,5% de óleo de linhaça.

As rações experimentais foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais para as fases: inicial (1-21 dias de idade) e de crescimento/acabamento (22-43 dias de idade), de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005), de forma a serem isoenergéticas, isoaminoacídicas, isocálcicas e isofosfóricas. As composições percentual e calculada das rações experimentais encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

Foram avaliados o desempenho zootécnico (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar) e os parâmetros relativos aos ossos: comprimento, diâmetro, peso e Índice de Seedor, densitometria óptica radiográfica, resistência óssea e concentração de minerais (cinzas) nos ossos.

TABELA 1. Composições percentual e calculada das rações experimentais (1-21 dias)
 Table 1. Percentual and calculated compositions of experimental diets (1-21 days)

Ingredientes <i>Ingredients</i>	Óleo de soja <i>Soybean Oil</i>	Níveis de óleo de linhaça (%) <i>Linseed Oil Levels (%)</i>			
		2,0	3,5	5,0	6,5
Milho, grão <i>Corn grain</i>	62,20	62,20	57,62	53,14	48,66
Farelo de soja, 45% <i>Soybean meal, 45%</i>	31,74	31,74	33,07	33,92	34,76
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	1,88	1,88	1,89	1,90	1,91
Calcário <i>Limestone</i>	1,04	1,04	1,02	1,01	1,00
Óleo <i>Oil</i>	2,00	2,00	3,50	5,00	6,50
Sal Comum <i>Salt</i>	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
DL-metionina, 98% <i>DL-methionine, 98%</i>	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28
L-lisina HCl, 78% <i>L-Lysine HCl, 78%</i>	0,28	0,28	0,26	0,24	0,22
Inerte <i>Inert</i>	0,00	0,00	1,78	3,92	6,08
Suplemento Mineral ¹ <i>Mineral Supplement</i>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. Vitamínico ² <i>Vitamin supplement</i>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT <i>BHT</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados <i>Calculated values</i>					
PB (%) <i>Crude protein (%)</i>	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
EMA (kcal/kg) <i>Metabolizable energy (kcal/kg)</i>	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000
Met + Cis (%) <i>Methionine + cistine (%)</i>	0,897	0,897	0,897	0,897	0,897
Lisina (%) <i>Lysine (%)</i>	1,263	1,263	1,263	1,263	1,263
Cálcio (%) <i>Calcium (%)</i>	0,960	0,960	0,960	0,960	0,960
Fósforo disponível(%) <i>Available phosphorus (%)</i>	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Extrato etéreo (%) <i>Ether extract (%)</i>	4,380	4,380	5,720	7,060	8,390
Sódio (%) <i>Sodium (%)</i>	0,222	0,222	0,222	0,222	0,222

¹ Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

¹ Mineral Supplement (Content per kg of premix): Iron 100,000 mg; Copper 16,000 mg; Iodine 2,400 mg; Zinc 100,000 mg; Manganese 140,000 mg; Selenium 400 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g

² Suplemento Vitamínico Inicial ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 7.000.000 UI; Vit. D3 2.200.000 UI; Vit.E 11.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 2.000 mg; Vit. B2 5.000 mg, Vit. B12 12.000 mcg; Vit. B6 3.000 mg, Niacina 35.000 mg; Ácido Pantotênico 13.000 mg; Ácido Fólico 800 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

² Starting Mineral Supplement (Content per kg of premix): Vit. A 7,000,000 UI; Vit. D3 2,200,000 UI; Vit.E 11,000 mg; Vit. K3 1,600 mg; Vit. B1 2,000 mg; Vit. B2 5,000 mg, Vit. B12 12,000 mcg; Vit. B6 3,000 mg; Niacin 35,000 mg; Pantotenic Acid 13,000 mg; Folic Acid 800 mg; Antioxidant 100,000 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g.

TABELA 2. Composições percentual e calculada das rações experimentais (22-43 dias)
 Table 2. Percentual and calculated compositions of experimental diets (22-43 days)

Ingredientes <i>Ingredients</i>	Óleo de soja <i>Soybean Oil</i>	Níveis de óleo de linhaça (%) <i>Linseed Oil Levels (%)</i>			
		2,0	3,5	5,0	6,5
Milho, grão <i>Corn grain</i>	68,43	68,43	64,40	59,91	55,43
Farelo de soja, 45% <i>Soybean meal, 45%</i>	25,80	25,80	27,40	28,25	29,09
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	1,66	1,66	1,68	1,69	1,69
Calcário <i>Limestone</i>	0,99	0,99	0,97	0,96	0,95
Óleo <i>Oil</i>	2,00	2,00	3,50	5,00	6,50
Sal comum <i>Salt</i>	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
DL-metionina, 98% <i>DL-methionine, 98%</i>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,26
L-lisina HCl, 78% <i>L-Lysine HCl, 78%</i>	0,34	0,34	0,30	0,28	0,27
Inerte <i>Inert</i>	0,00	0,00	0,97	3,13	5,28
Suplemento Mineral ¹ <i>Mineral Supplement</i>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. Vitamínico ² <i>Vitamin Supplement</i>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT <i>BHT</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados <i>Calculated values</i>					
PB (%) <i>Crude protein (%)</i>	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
EMA (kcal/kg) <i>Metabolizable energy (kcal/kg)</i>	3.100	3.100	3.100	3.100	3.100
Met + Cis (%) <i>Methionine + cistine (%)</i>	0,825	0,825	0,825	0,825	0,825
Lisina (%) <i>Lysine (%)</i>	1,156	1,156	1,156	1,156	1,156
Cálcio (%) <i>Calcium (%)</i>	0,874	0,874	0,874	0,874	0,874
Fósforo disponível(%) <i>Available phosphorus (%)</i>	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406
Extrato etéreo (%) <i>Ether extract (%)</i>	4,550	4,550	5,910	7,250	8,580
Sódio (%) <i>Sodium (%)</i>	0,192	0,192	0,192	0,192	0,192

¹ Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

¹ Mineral Supplement (Content per kg of premix): Iron 100,000 mg; Copper 16,000 mg; Iodine 2,400 mg; Zinc 100,000 mg; Manganese 40,000 mg; Selenium 400 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g

² Suplemento Vitamínico Crescimento ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 6.000.000 UI; Vit. D3 2.000.000 UI; Vit.E 10.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 1.400 mg; Vit. B2 4.000 mg, Vit. B12 10.000 mcg; Vit. B6 2.000 mg, Niacina 30.000 mg; Ácido Pantotênico 11.000 mg; Ácido Fólico 600 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

² Growth Mineral Supplement (Content per kg of premix): Vit. A 6,000,000 UI; Vit. D3 2,000,000 UI; Vit.E 10,000 mg; Vit. K3 1,600 mg; Vit. B1 1,400 mg; Vit. B2 4,000 mg; Vit. B12 10,000 mcg; Vit. B6 2,000 mg; Niacin 30,000 mg; Pantotenic Acid 11,000 mg; Folic Acid 600 mg; Antioxidant 100,000 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g.

Para avaliação de desempenho, as rações e as aves foram pesadas no início do experimento, aos 7, 14, 21 e 43 dias de idade.

Para avaliação dos parâmetros ósseos, após o sacrifício por meio de atordoamento seguido de sangria (aprovado pelo Comitê de Ética Animal - Registro N° 069/2003), foram coletados os fêmures e as tíbias esquerdas de duas aves/repetição aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade. As amostras ficaram congeladas (-18° C) até o início das análises dos parâmetros ósseos, que foram executadas conforme descrito a seguir.

Índice de seedor

Após o descongelamento dos ossos, foram retirados os tecidos envolventes (tecido muscular aderido) com auxílio de tesouras e pinças.

Os ossos frescos foram pesados em balança analítica ($\pm 0,0001\text{g}$) e o comprimento e o diâmetro (na porção média do osso) foram medidos usando paquímetro eletrônico digital (capacidade de 0 a 150 mm e resolução de 0,01 mm). Usando o peso do osso e seu comprimento, foi calculado o Índice de Seedor (Seedor et al., 1991) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Seedor} = \frac{\text{peso do osso (mg)}}{\text{comprimento do osso (mm)}}$$

Este índice é utilizado como um indicativo da densidade óssea. Quanto maior o Índice de Seedor maior a densidade da peça óssea e vice-versa.

Densitometria óssea radiográfica

Apenas os fêmures esquerdos foram utilizados na determinação da densitometria óssea radiográfica (densidade mineral óssea). As análises radiográficas foram realizadas na Clínica de Odontologia do Hospital Universitário de Maringá.

Em uma primeira etapa, as peças ósseas limpas (sem tecidos envolventes) foram colocadas sob o filme fotográfico (marca Kodak Insight®, size 2 IP-21, tipo periapical), todas na mesma posição, e então radiografadas utilizando-se um aparelho de raio-X da marca DABI®, modelo Atlanti-Spectro 70x, calibrado, com distância foco-filme de 45 cm, ajustado para 70kVp, 8mAs e tempo de exposição de 3 segundos. Estes valores de tensão, corrente e tempo de exposição foram considerados ideais após análises prévias. Após a obtenção das radiografias, elas foram processadas em uma reveladora automática marca Avi Techiques Inc.®, modelo Peri-Pro maintenace, utilizando-se um tempo de processamento de seis minutos para revelação e fixação.

Em uma segunda etapa, as radiografias foram digitalizadas, utilizando-se um scanner marca HP-Scan Jet, modelo 4 CTT, com tampa de transparência acoplada, por meio do software HP Deskscan, com resolução de 2400 DPI (“Dots Per Inch”=pontos por polegada) e gravadas em arquivo com extensão JPG.

A terceira etapa se constituiu na leitura das radiografias para a determinação da densidade das peças ósseas. Para isso, foi utilizada a ferramenta histograma do software Adobe Photoshop 8.0, que permite a delimitação da área específica a ser analisada e determina a intensidade de cores (que possui 256 tons, em que o valor zero representa o preto e o valor 256 representa o branco) em valores de escala de cinza. Como referencial radiográfico, nas tomadas radiográficas, utilizou-se uma escada de alumínio (penetrômetro de alumínio) de 10 degraus com 1 mm de espessura entre um degrau e

outro. As leituras densitométricas foram realizadas em cinco pontos na região central da imagem radiográfica, de maneira a obter um valor médio que melhor representasse a amostra, devido à não-homogeneidade do tecido ósseo. Da mesma forma, foram realizadas cinco leituras em cada degrau da escada de alumínio.

Os dados obtidos em valores de cinza foram convertidos em valores relativos à espessura da escada de alumínio. Para a conversão, foi realizada a setorização da curva densitométrica característica. Em cada radiografia era estabelecido este setor por meio da escolha de três degraus da escada de alumínio, cujos respectivos valores de escala de cinza limitavam a região de estudo previamente determinada no osso. Esses degraus que determinavam o setor a ser analisado, com suas respectivas espessuras, eram especificados no programa computacional Excel[®] que, a seguir, fornecia a expressão matemática que melhor se ajustava aos pontos experimentais contidos nesse intervalo. Por meio das expressões matemáticas obtidas, os dados eram convertidos em milímetros de alumínio (mmAL), valores esses que indicavam a densidade mineral óssea. Quanto maior o valor obtido, maior a radiopacidade e, conseqüentemente, maior a densidade.

Resistência óssea

O ensaio para a determinação da resistência óssea foi realizado no Laboratório de Equipamentos Odontológicos do Departamento de Odontologia da Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Araçatuba.

Para a determinação da resistência óssea, os fêmures esquerdos foram previamente preparados, colocados em água fervente e, após a retirada do tecido muscular aderido, foram mergulhados em éter por 24 horas para serem desengordurados, e secos em estufa de ventilação forçada a 55° C por 72 horas. As

análises de resistência foram realizadas em uma máquina universal de ensaios mecânicos, marca EMIC® - modelo DL3000, e os dados foram coletados por um computador diretamente da máquina por meio do Programa Computacional Tesc® e os valores expressos em Newton (N). As peças ósseas foram posicionadas em apoios da região das epífises, ficando as mesmas sem apoio na região central. A posição escolhida foi a antero-posterior para evitar que ossos se deslocassem no momento da quebra. A força foi aplicada na região central, sempre no mesmo ponto em todos os ossos. A velocidade de descida da sonda/aplicação da força foi a mesma (5 mm/s) para todos os ossos, sendo mensurada a força aplicada no momento anterior à ruptura do osso. A carga utilizada foi de 200 kgf (\cong 1974 N) para todas as amostras, entretanto, as distâncias entre os apoios foram de 20, 25, 35, 40, 45 e 55 mm, para os ossos de 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias, respectivamente.

Composição mineral

Após o ensaio para a determinação da resistência óssea, os fêmures esquerdos foram preparados para a determinação do teor de minerais, no Laboratório de Análises de Alimentos – LANA da Universidade Estadual de Maringá. Para a realização das análises, os ossos previamente secos (estufa de ventilação forçada) foram triturados, pesados em balança analítica (0,0001g), secos em estufa a 105°C por 12 horas, pesados após resfriamento e calcinados em mufla a 600° C por 24 horas, para obtenção das cinzas.

Foram efetuadas, por meio da análise de superfície de resposta, as análises estatísticas dos parâmetros ósseos: comprimento, diâmetro, peso, Índice de Seedor, densitometria óptica radiográfica e resistência óssea, considerando o nível de inclusão

de óleo de linhaça e a idade como variáveis independentes. Para tanto, foi usado o método de modelos lineares generalizados (Nelder & Wedderburn, 1972), admitindo distribuição gama com função de ligação recíproca. Para as variáveis de desempenho e a concentração de minerais, foi admitida a distribuição normal, procedendo-se análises de regressão polinomial em função dos níveis de inclusão de óleo de linhaça dentro de cada idade.

Resultados e Discussão

Desempenho

Os resultados das análises do desempenho são apresentados na Tabela 3.

À medida que os níveis de óleo de linhaça foram aumentados nas rações, observou-se aumento linear ($P < 0,05$) do consumo de ração, nos períodos de 1 a 14 e de 1 a 21 dias de idade. O mesmo resultado não foi observado ($P > 0,05$) para os períodos de 1 a 7 dias, de 22 a 43 dias e de 1 a 43 dias de idade.

O aumento linear do consumo de ração na fase inicial pode estar relacionado à menor ação dinâmica específica das gorduras em diminuir o incremento calórico nos maiores níveis de óleo estimulando o consumo de ração, aliado à melhora na palatabilidade e textura da ração. Soma-se a esse fato, a maior taxa de passagem da ração em aves jovens, uma vez que aves mais velhas possuem um sistema digestório maior, com melhor funcionamento do ceco (Andreotti et al., 2004).

Esses resultados discordam dos encontrados por Tabeeidian et al. (2005) que verificaram menor consumo de ração pelos frangos de corte alimentados com 7,5% de óleo de soja, no período de sete aos 21 dias de idade. Entretanto, foram parcialmente

semelhantes aos encontrados por Pucci et al. (2003) que observaram que a inclusão de níveis crescentes de até 7,5% de óleo de soja nas rações aumentou linearmente o consumo das aves, nos períodos de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade.

TABELA 3. Equações de regressão referentes às variáveis de desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 43 dias de idade

Table 3. Regression equation relating to performance variables of broiler chickens fed with different linseed oil in the period of 1 to 43 days of age

Idade Age	Variáveis de desempenho Performance variables		
	Consumo de ração (g/ave) Feed intake (g/bird)	R ²	P**
1 a 7 dias 1 to 7 days	NS*	-	-
1 a 14 dias 1 to 14 days	$\hat{Y} = 499,53 + 2,93545X$	0,79	0,0115
1 a 21 dias 1 to 21 days	$\hat{Y} = 1111,27 + 7,57756X$	0,72	0,1420
22 a 43 dias 22 to 43 days	NS	-	-
1 a 43 dias 1 to 43 days	NS	-	-
	Ganho de Peso (g) Weight gain (g)	R ²	P**
1 a 7 dias 1 to 7 days	$\hat{Y} = 124,014 + 1,54057X$	0,94	0,0001
1 a 14 dias 1 to 14 days	$\hat{Y} = 394,077 + 5,71075X$	0,99	0,0001
1 a 21 dias 1 to 21 days	$\hat{Y} = 795,335 + 11,6335X$	0,96	0,0001
22 a 43 dias 22 to 43 days	NS	-	-
1 a 43 dias 1 to 43 days	$\hat{Y} = 2506,24 + 23,5918X$	0,77	0,0129
	Conversão Alimentar (g/g) Feed: gain (g/g)	R ²	P**
1 a 7 dias 1 to 7 days	$\hat{Y} = 1,12857 - 0,00841694X$	0,90	0,0001
1 a 14 dias 1 to 14 days	$\hat{Y} = 1,25534 + 0,003875X - 0,00210914X^2$	0,99	0,0010
1 a 21 dias 1 to 21 days	$\hat{Y} = 1,39667 - 0,00990634X$	0,97	0,0001
22 a 43 dias 22 to 43 days	NS	-	-
1 a 43 dias 1 to 43 days	$\hat{Y} = 1,80708 - 0,0151257X$	0,94	0,0011

* NS – não-significativo (no significant)

** P – nível de probabilidade, Teste de F (probability level, F test)

Constatou-se aumento linear ($P < 0,05$) no ganho de peso, com subsequente melhoria na conversão alimentar, nos períodos inicial e total de criação, corroborando os encontrados por Dutra Jr. et al. (1991) e Pucci et al. (2003), que avaliaram o efeito da adição de níveis crescentes de óleo de abatedouro avícola e soja às rações, respectivamente. Essa melhoria no ganho de peso e na conversão alimentar podem ser atribuídos ao efeito extracalórico das gorduras que se refere à maior energia líquida destas (Sakomura et al., 2004), visto que a deposição de gordura na ave é mais eficiente quando se utiliza a gordura proveniente da dieta quando comparada à síntese de ácidos graxos e glicerol, a partir de precursores da acetil coenzima A. Dessa forma, a adição de gordura na ração promove redução da síntese de ácidos graxos e, conseqüentemente, a ave dispõe de mais energia para os seus propósitos produtivos (Franco, 1992).

No entanto, no período de 1 a 14 dias de idade, embora o ganho de peso e o consumo de ração tenham aumentado linearmente ($P < 0,05$), a conversão alimentar apresentou comportamento quadrático ($P < 0,05$), com ponto de máximo aos 0,91% de inclusão de óleo de linhaça às rações. Esse resultado pode estar relacionado com a piora na utilização da energia das rações experimentais, provavelmente, em função de um menor tempo de trânsito da ração pelo trato digestório com adição de níveis mais baixos de óleo, o que não permitiu a exposição adequada dos nutrientes aos processos digestivos e absorptivos (Andreotti, 2002).

No período de 22 a 43 dias de idade, os resultados não demonstraram efeito ($P > 0,05$) da adição de níveis crescentes de óleo de linhaça às rações sobre o desempenho das aves, estando de acordo com os achados por Tabeedian et al. (2005). Todavia, diferiram dos resultados obtidos por Zelenka et al. (2006) que constataram melhoria no consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar de frangos de corte alimentados com rações que contém 5% e 7% de óleo de linhaça quando comparados

àqueles que receberam 1% e 3%, no período de 20 aos 40 dias de idade. Da mesma forma, Nitsan et al. (1997) evidenciaram efeitos positivos sobre a conversão alimentar com a adição de óleo de soja em rações para frangos de corte, no período de três a seis semanas de idade.

Parâmetros ósseos

Os resultados referentes aos parâmetros ósseos são apresentados nas Figuras 1 e 2.

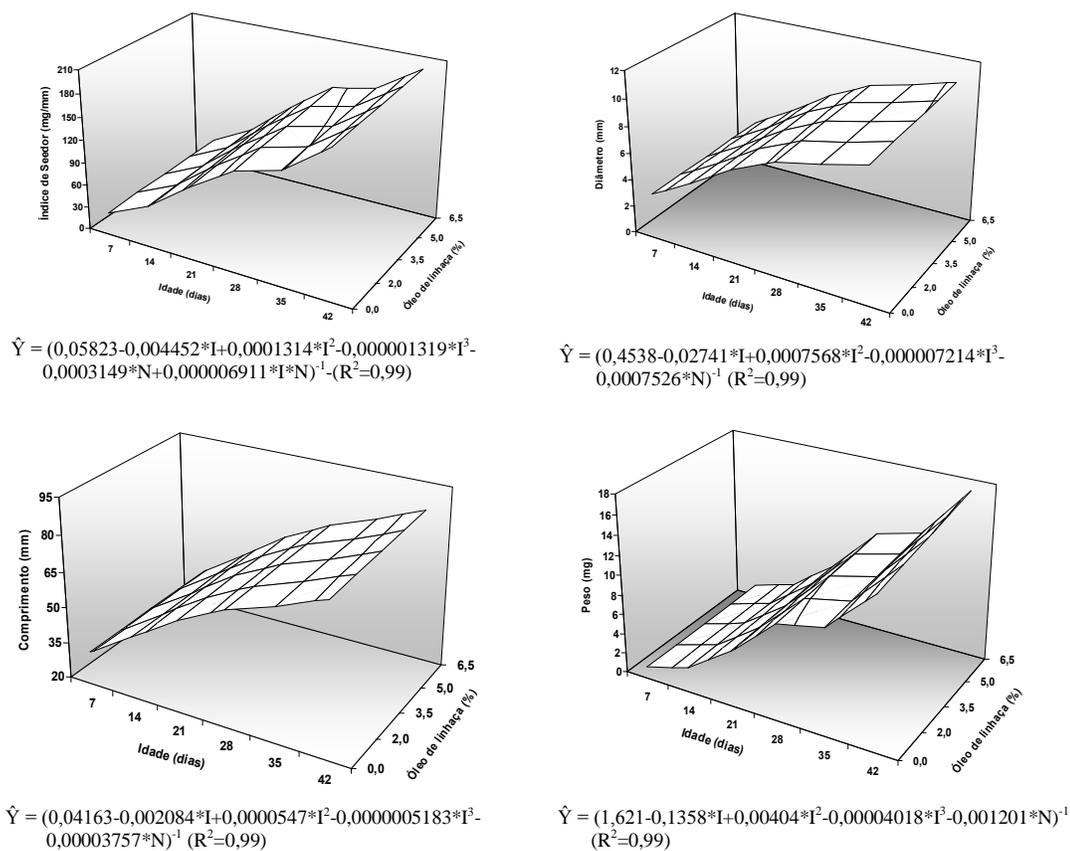


FIGURA 1. Parâmetros ósseos determinados no fêmur de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade.

Figure 1. Bone parameters determined in broilers femur fed with different linseed oil levels in the period of 1 to 42 days of age.

I = idade (age), N = nível de óleo de linhaça (linseed oil level)

Constatou-se efeito linear crescente ($P < 0,05$) da adição de óleo de linhaça sobre o diâmetro e comprimento absolutos do fêmur e da tíbia das aves, entretanto, apenas o peso do absoluto do fêmur foi influenciado pela inclusão de óleo nas rações no período de 1 a 42 dias de idade.

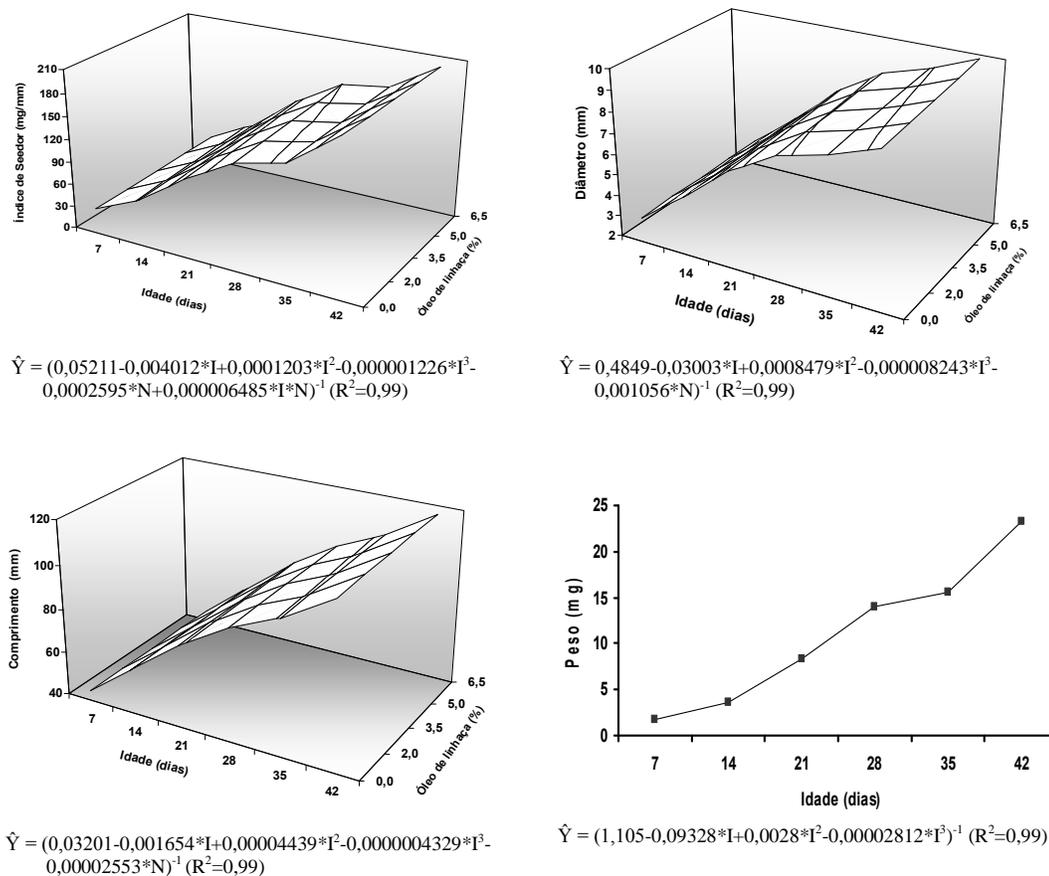


FIGURA 2. Parâmetros ósseos determinados na tíbia de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade.

Figure 2. Bone parameters determined in broilers tibia fed with different linseed oil levels in the period of 1 to 42 days of age.

I = idade (age), N = nível de óleo de linhaça (linseed oil level)

Esses resultados, provavelmente, estejam correlacionados com o melhor desempenho das aves alimentadas com as rações que contém níveis superiores de óleo de linhaça, estando de acordo com Williams et al. (2000) que ao investigarem o efeito das variáveis de crescimento sobre o desenvolvimento dos ossos concluíram que os animais que cresceram mais rápido, ou seja, os mais pesados apresentaram ossos mais longos, com maiores diâmetros e maiores valores de espessura da região cortical. Somase a isso o fato de que a inclusão de níveis crescentes de óleo de linhaça pode ter proporcionado maiores valores de energia líquida às aves, favorecendo o desenvolvimento dos tecidos, inclusive o tecido ósseo.

Concordando com essas observações, Leterrier & Nys (1992) constataram aumento no comprimento e no peso (seco e úmido) da tíbia de frangos com o avanço da idade, no período de 1 a 37 dias, sendo que os valores obtidos para as linhagens de rápido crescimento foram superiores quando comparadas às de crescimento lento.

Em contrapartida, Reddish & Lilburn (2004) enfatizam a existência de diferenças no desenvolvimento ósseo quando é aplicada a seleção para ganho de peso entre as linhagens. Os autores observaram que frangos de corte desenvolvidos para maior crescimento do músculo do peito apresentaram menores valores para o comprimento, embora a espessura do fêmur e da tíbia tenham sido semelhantes às 8 semanas de idade.

Segundo Rutten et al. (2002), uma menor carga sobre os ossos, em decorrência do menor peso vivo, pode reduzir o peso do fêmur aos 19 dias de idade e, da mesma forma, aumentar o crescimento longitudinal dos ossos em virtude da menor pressão sobre a placa de crescimento. Da mesma forma, Reich et al. (2004) observaram ossos mais curtos e placas de crescimento mais estreitas, resultados do aumento nas taxas de ossificação e vascularização, em ossos longos de aves submetidas a uma maior carga de peso.

A diferença obtida em relação ao efeito dos níveis de óleo de linhaça sobre o peso absoluto dos ossos estudados demonstra que o fêmur pode se apresentar tão sensível às mudanças nutricionais quanto a tíbia (Moran & Todd, 1994) devendo, portanto, também ser avaliado quando se trata de examinar as características relacionadas ao desenvolvimento ósseo em aves (Applegate & Lilburn, 2002).

Os parâmetros de crescimento e qualidade do fêmur e da tíbia também foram influenciados pela idade e apresentaram comportamento cúbico ($P < 0,05$) no período de 1 a 42 dias de idade, contrariando os encontrados por Skinner & Waldroup (1995), Bruno (2002) e Yalcin et al. (2001).

Os dados revelaram interação entre idade e níveis de óleo de linhaça ($P < 0,05$) para o índice de Seedor, demonstrando que os efeitos positivos e negativos dos maiores níveis de óleo de linhaça observados para o fêmur e a tíbia, respectivamente, foram potencializados no final da fase de crescimento. Uma vez que o índice de Seedor foi calculado com base na relação entre o peso e o comprimento dos ossos, esses resultados, provavelmente, estejam correlacionados com os obtidos para essas variáveis.

Os dados referentes ao peso e a concentração de cinzas no fêmur são apresentados nas Figuras 3 e 4.

Interação entre idade e nível de óleo de linhaça ($P < 0,05$) também foi verificada para o peso das cinzas de forma que os maiores valores foram obtidos com os maiores níveis de óleo nas rações, em todas as idades avaliadas.

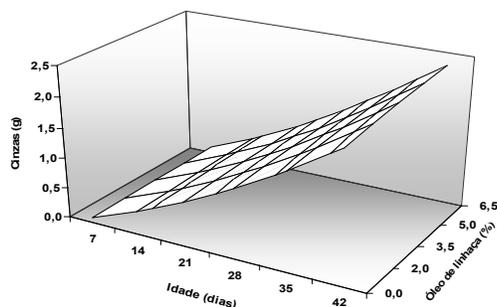


FIGURA 3. Peso das cinzas (g) determinado no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade.

Figure 3. Ash weight (g) determined in broilers femur, fed with different linseed oil levels in the period of 1 to 42 days of age.

$$\hat{Y} = -0,160807 + 0,0305661 * I + 0,000559559 * I^2 - 0,00365194 * N + 0,000785044 * I * N \quad (R^2=0,99); I = \text{idade (age)}, N = \text{nível de óleo de linhaça (linseed level)}$$

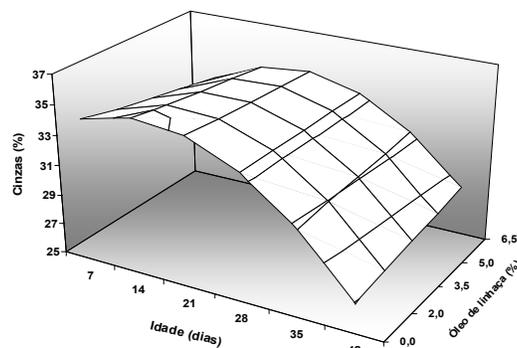


FIGURA 4. Concentração das cinzas (%) determinada no fêmur de frangos de corte com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade.

Figure 4. Ash concentration (%) determined in broilers femu, fed with different linseed oil levels in the period of 1 to 42 days of age.

$$\hat{Y} = 32,5728 + 0,354957 * I - 0,0116441 * I^2 - 0,417018 * N + 0,0148898 * I * N \quad (R^2=0,99); I = \text{idade (age)}, N = \text{nível de óleo de linhaça (linseed oil level)}$$

Embora a concentração de cinzas tenha apresentado redução quadrática com o avanço da idade, constatou-se interação entre os níveis de óleo de linhaça e a idade ($P < 0,05$) de forma que na fase inicial as aves alimentadas com níveis superiores de óleo de linhaça apresentaram menores concentrações de cinzas, entretanto, a partir dos 28

dias, os melhores resultados quanto à mineralização do fêmur foram obtidos com os maiores níveis de óleo nas rações.

Esses resultados corroboram os encontrados por Bar et al. (2003), que concluíram que os frangos de corte aumentam o peso e reduzem a porcentagem de cinzas nos ossos com o incremento da idade. No entanto, o efeito deletério dos maiores níveis de óleo de linhaça sobre a concentração de cinzas no fêmur durante a fase inicial pode estar relacionado com a formação de sabões insolúveis entre os ácidos graxos livres e os minerais durante o processo digestório, reduzindo o teor de cinzas e a retenção de cálcio nos ossos (Andreotti et al., 2004), visto que, nessa fase há intensa taxa de formação (4 aos 18 dias de idade) e mineralização óssea (4 aos 11 dias de idade) (Williams et al., 2000). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Dell'Isola et al. (2003).

Contudo, a superioridade na concentração de cinzas no final da fase de crescimento alcançada com os maiores níveis de óleo de linhaça nas rações, provavelmente, seja resultado da maior disponibilidade mineral com o avanço da idade, pois, em aves mais velhas quando os sabões insolúveis são formados na porção superior do trato digestório, os mesmos podem ser solubilizados ao alcançarem a porção posterior em razão das mudanças de pH (Leeson & Zubair, 2006).

As ações positivas dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 (ácido graxo eicosapentaenóico - EPA), sobre os ossos, podem ser atribuídas à sua ação de aumentar a absorção de cálcio no intestino e incrementar a formação óssea por meio do aumento na deposição de cálcio e redução na reabsorção óssea por meio da menor excreção urinária de cálcio (Claassen et al., 1995; Krueger & Horrobin, 1997). Essas afirmativas poderiam explicar os resultados positivos em relação à mineralização do fêmur com a adição crescente de óleo de linhaça às rações, confirmando o possível efeito dos ácidos

graxos de cadeia longa da série ômega 3 sobre o desenvolvimento e a composição mineral do osso, conforme observado por Liu et al. (2003).

Os dados referentes à resistência e a densidade mineral óssea encontram-se nas Figuras 5 e 6.

A resistência óssea não foi influenciada ($P>0,05$) pelo incremento de óleo de linhaça nas rações, entretanto, apresentou comportamento cúbico ($P<0,05$) em função da idade. Esses resultados discordam dos encontrados por Yalcin et al. (2001) que observaram aumento quadrático na resistência e densidade mineral óssea de frangos de corte com o avanço da idade. Contudo, Reis et al. (2005) relataram comportamento semelhante ao aqui encontrado para a resistência à quebra da tíbia de frangos de corte, avaliados aos 21, 28, 35 e 42 dias de idade.

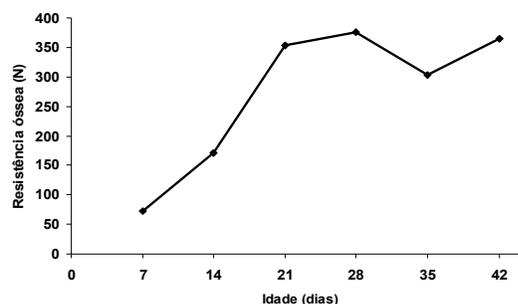


FIGURA 5. Resistência óssea a quebra determinada no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade.

Figure 5. Bone strength determined in broilers femur, fed with different linseed oil levels in the period of 1 to 42 days of age.

$$\hat{Y} = (0,02839 - 0,002686 * I + 0,0000905 * I^2 - 0,0000009782 * I^3)^{-1} \quad (R^2=0,99); \quad I = \text{idade (age)},$$

$N = \text{nível de óleo de linhaça (linseed level)}$

Rath et al. (1999) demonstraram a existência de correlações positivas entre a resistência óssea e o conteúdo de cinzas, a densidade mineral, as ligações cruzadas de piridinolina e a fluorescência da matriz orgânica. Contudo, os maiores valores foram obtidos para as ligações cruzadas de piridinolina e a fluorescência da matriz, sugerindo

que essa variável é altamente influenciada pela quantidade de ligações cruzadas entre as fibras de colágeno. Esses resultados evidenciam que não apenas o conteúdo mineral, mas também fatores ligados à matriz orgânica do osso são responsáveis pela resistência óssea (Rath et al., 2000). Segundo Oviedo-Rondón (2005), existe uma alta variabilidade nos dados referentes ao desenvolvimento ósseo em aves em função das diferentes metodologias utilizadas.

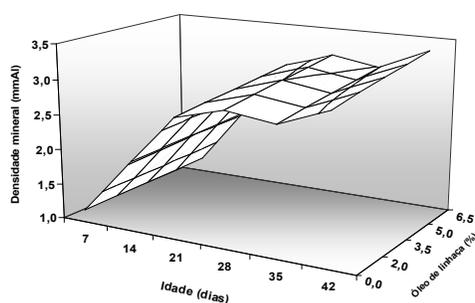


FIGURA 6. Densidade mineral óssea determinada no fêmur de frangos de corte, alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça no período de 1 a 42 dias de idade.

Figure 6. Bone mineral density determined in broilers fêmu, fed with different linseed oil levels in the period of 1 to 42 days of age.

$$\hat{Y} = (1,471 - 0,1118 * I + 0,003649 * I^2 - 0,00003895 * I^3 - 0,003665 * N)^{-1} \quad (R^2 = 0,99); \quad I = \text{idade (age)}, \quad N = \text{nível de óleo de linhaça (linseed oil level)}$$

Com o aumento do nível de óleo de linhaça nas rações, verificou-se melhoria linear ($P < 0,05$) para a densidade mineral óssea em todas as idades analisadas, no entanto, os resultados apresentaram comportamento cúbico ($P < 0,05$) de acordo com o avanço da idade.

Os resultados obtidos demonstraram comportamento semelhante para a densidade mineral, o Índice de Seedor e o peso das cinzas, justificando a relação existente entre essas variáveis e o provável efeito do óleo de linhaça, como fonte de precursores dos

ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de cadeia longa envolvidos na mineralização e no desenvolvimento ósseo.

Conclusões

A inclusão crescente de óleo de linhaça às rações foi efetiva na melhoria do ganho de peso e a conversão alimentar dos frangos de corte, nas fases inicial (1 a 21 dias) e total (1 a 43 dias) de criação.

Os parâmetros de crescimento e qualidade óssea da tíbia e fêmur de frangos de corte foram positivamente influenciados pela inclusão crescente de óleo de linhaça às rações sem, contudo, afetar a resistência óssea.

O fornecimento de rações que contém 6,5% de óleo de linhaça foi benéfico para o crescimento e mineralização dos ossos longos de frangos de corte.

Literatura Citada

- ANDREOTTI, M.O. **Valor nutricional de diferentes fontes lipídicas para frangos de corte**. 2002. 74 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- ANDREOTTI, M.O.; JUNQUEIRA, O.M.; BARBOSA, M.J.B. et al. Tempo de trânsito intestinal, desempenho, características de carcaça e composição corporal de frangos de corte alimentados com rações isoenergéticas formuladas com diferentes níveis de óleo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.870-879, 2004.
- APPLEGATE, T.J.; LILBURN, M.S. Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. **Poultry Science**, v.81, p.1289-1294, 2002.
- BAR, A.; SHINDER, D.; YOSEFI, S. et al. Metabolism and requirements for calcium and phosphorus in the fast-growing chicken as affected by age. **British Journal of Nutrition**, v.89, p.51-60, 2003.
- BRUNO, L.D.G. **Desenvolvimento ósseo em frangos**: influência da restrição alimentar e da temperatura ambiente. 2002. 77 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

- CALDER, P.C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.31, p.467-490, 1998.
- CLAASSEN, N.; COETZER, H.; STEINMANN, C.M. et al. The effect of different n-6/n-3 essential fatty acid ratios on calcium balance and bone in rats. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.53, p.13-19, 1995.
- DELL'ISOLA, A.T.P.; VELOSO, J.A.F.; BAIÃO, N.C. et al. Efeito do óleo de soja em dietas com diferentes níveis de cálcio sobre a absorção e retenção óssea de cálcio e de fósforo em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.4, p.461-466, 2003.
- DUTRA JR., W.M.; ARIKI, J.; KRONKA., S.N. et al. Níveis do óleo de abatedouro avícola no desempenho e características da carcaça de frangos de corte. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.20, p.477-482, 1991.
- FRANCO, S.G. **Programas de alimentação e fontes de óleo para frangos de corte**. 1992. 118 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1992.
- KRATZER, F.H.; VOHRA, P. **The use of flaxseed as a poultry feedstuff**. Disponível em: <<http://animalscience.ucdavis.edu/avian/pfs21.htm>> Acesso em: 17 mar 2005.
- KRUEGER, M.C.; HORROBIN, D.F. Calcium metabolism, osteoporosis and essential fatty acids: a review. **Progress in Lipid Research**, v.36, n.2/3, p.131-151, 1997.
- LEESON, S.; ZUBAIR, A.K. **Digestion in poultry I: proteins and fats**. Disponível em: <<http://www.novusint.com/Public/Library/TechPaper.asp?ID=99>>. Acesso em: 12 fev. 2006
- LETERRIER, C.; NYS, Y. Composition, cortical structure and mechanical properties of chicken tibiotarsi: effect of growth rate. **British Poultry Science**, v.33, p.925-939, 1992.
- LIU, D.; DENBOW, D.M. Maternal dietary lipids modify composition of bone lipids and ex vivo prostaglandin E₂ production in early postnatal Japanese quail. **Poultry Science**, v.80, n.9, p.1344-1352, 2001.
- LIU, D.; VEIT, H.P.; WILSON, J.H. et al. Long-term supplementation of various dietary lipids alters bone mineral content, mechanical properties and histological characteristics of Japanese quail. **Poultry Science**, v.82, p.831-839, 2003.
- MCCULLOCH, C.E.; SEARLE, S.R. **Generalized, linear and mixed models**. New York: John Willey, 2001. 325p.
- MORAN JR, E.T.; TODD, M.C. Continuous submarginal phosphorus with broilers and the effect of preslaughter transportation: carcass defects, further-processing yields and tibia-femur integrity. **Poultry Science**, v.73, p.1448-1457, 1994.
- NELDER, J.A.; WEDDERBURN, W.M. Generalized linear models. **Journal Royal Statistic Society**, v.135, n.3, p.370-384, 1972.
- NITSAN, Z.; DVORIN, A.; ZOREF, Z. et al. Effect of added soybean oil and dietary energy on metabolizable and net energy of broiler diets. **British Poultry Science**, v.38, n.1, p.101-106, 1997.

- OVIEDO-RONDON E.O. Nutritional factors that affect leg problems in broilers. In: POULTRY NUTRITION CONFERENCE, 32., 2005, Raleigh. **Proceedings...** Raleigh: [s.n.], 2005. p.58-88.
- PATTISON, M. Impacts of bone problems on the poultry meat industry. In: WHITEHEAD, C.C. (Ed.). **Bone biology and skeletal disorders in poultry.** Abingdon: Carfax Publishing Company. 1992. p. 329-338.
- PUCCI, L.E.A.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F. et al. Níveis de óleo e adição de complexo enzimático na ração de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n. 4, p.909-917, 2003.
- RATH, N.C.; BALOG, J.M.; HUFF, W.E. Comparative differences in the composition and biochemical properties of tibiae of seven- an seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v.78, p.1232-1239, 1999.
- RATH, N.C.; HUFF, G.R.; HUFF, W.E. et al. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v.79, p.1024-1032, 2000.
- REDDISH, J.M.; LILBURN, M.S. A comparison of growth and development patterns in diverse genotypes of broilers. 1. Male broilers growth. **Poultry Science**, v.83, p.1067-1071, 2004.
- REICH, A.; JAFFE, N.; TONG, A. et al. Weight loading young chicks inhibits bone elongation and promotes growth plate ossification and vascularization. **Journal of Applied Physiology**, v.98, p.2381-2389, 2004.
- REIS, D.T.C.; BARBOSA, A.A.; MORAES G.H.K. et al. Aspectos físicos, químicos e mecânicos de tíbias de frangos de corte machos e fêmeas. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2005]. CD-ROM. Monográficos.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.** 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. 186p.
- RUTTEN, M.; LETERRIER, C.; CONSTANTIN, P. et al. Bone development and activity in chickens in response to reduced weight-load on legs. **Animal Research**, v. 51, p.327-336, 2002.
- SAKOMURA, N.; LONGO, F.A., RABELLO, C.B. et al. Efeito do nível de energia metabolizável da dieta no desempenho e metabolismo energético de frangos de corte. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6 (supl. 1), p.1758-1767, 2004.
- SEEDOR, J.G. et al. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of bone and Mineral Research**, v.6, p.339-346, 1991.
- SKINNER, J.T.T.; WALDROUP, P.W. Allometric bone development in floor-reared broilers. **Journal Applied Poultry Research**, v.4, N.3, p.265-270, 1995.
- TABEEDIAN, A.; SADEGHI, G.H.; POURREZA, J. Effect of dietary protein levels and soybean oil supplementation on broilers performance. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.10, p.799-803, 2005.

- WATKINS, B.A.; SHEN, C.; ALLEN, K.G.D. et al. Dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated and acetylsalicylic acid alter *ex vivo* PGE₂ biosynthesis, tissue IGF-I levels, and bone morphometry in chicks. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.11, n.9, p.1321-1332, 1996.
- WATKINS, B.A.; SHEN, C.; McMURTRY, J.P. et al. Dietary lipids modulate bone prostaglandin E₂ production, insulin-like growth factor – I concentration and formation rate in chicks. **Journal of Nutrition**, v.127, n.6, p.1084-1091, 1997.
- WATKINS, B.A. **Role of lipids and phytochemicals in bone health**. Disponível em: <http://www.ift.confex.com/ift/200/techprogram/paper_4941.htm>. Acesso em: 10 out. 2002.
- WATKINS, B.A. **Longitudinal growth and modeling of bone**. Disponível em: <http://www.novusint.com/Public/Library/Techpaper.asp?ID=9ift.confex.com/ift/200/techprogram/paper_4941.htm>. Acesso em: 12 fev. 2003.
- WILLIAMS, B.; SOLOMON, S.; WADDINGTON, D. et al. Skeletal development in the meat-type chicken. **British Poultry Science**, v.41, p.141-149, 2000.
- WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; MURRAY, D.H. et al. Bone strength during growth: influence of growth rate on cortical porosity and mineralization. **Calcified Tissue International**, v.74, p.236-245, 2004.
- YALCIN, S.; ÖZKAN, S.; COSKUNER, E. et al. Effects of strain, maternal age and sex on morphological characteristics and composition of tibial bone in broilers. **British Poultry Science**, v.42, n.2, p.184-190, 2001.
- ZELENKA, J. Linseed oils with different fatty acid patterns in the diet of broiler chickens. **Czech Journal of Animal**, v.51, n.3, p.117-121, 2006.

VI – Efeito da Inclusão de Óleo de Linhaça sobre a Composição Lipídica e a Concentração de Prostaglandina (PGE₂) em Ossos Longos de Frangos de Corte

RESUMO – O objetivo desse trabalho foi avaliar o perfil de ácidos graxos e a concentração de PGE₂ em tíbias de frangos de corte alimentados com rações que contêm níveis crescentes de óleo de linhaça (OL), no período de 1 a 42 dias de idade. Na fase inicial e de crescimento (1 a 21 dias e 22 a 42 dias, respectivamente), foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições e 50 aves/unidade experimental, em que as aves receberam rações formuladas com níveis crescentes de OL (2,0; 3,5; 5,0 e 6,5%). No período de 1 a 42 dias de idade, constatou-se que o perfil lipídico das rações refletiu sobre o perfil de ácidos graxos dos ossos. O aumento da inclusão de óleo de linhaça às rações promoveu redução linear (P<0,05) na concentração do 20:4n-6 nas células ósseas, contudo, com menor intensidade ao longo da idade. As concentrações dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 (EPA, DPA e DHA) nas células ósseas reduziram (P<0,05) em função da idade das aves, contudo, esse efeito foi menos intenso com a adição crescente de óleo de linhaça nas rações. A concentração de PGE₂ determinada no sobrenadante das células ósseas não foi influenciada (P>0,05) pelos níveis crescentes de óleo de linhaça, aos 21 e 42 dias de idade. Conclui-se que a adição de 4,0% de óleo de linhaça às rações mostrou-se efetiva em potencializar a incorporação dos ácidos graxos de cadeia longa ômega 3 nos ossos dos frangos, no período de 1 a 42 dias de idade.

Palavras-chave: ácido araquidônico, EPA, lipídios, prostaglandina E₂, tíbia

IV - Effect of Linseed Oil Inclusion on Bone Fatty Acids Profile and Prostaglandin (PGE₂) Concentration of Broilers Chickens

ABSTRACT – The aim of this work was to evaluate the fatty acids profile and PGE₂ concentration in tibia of broiler chickens fed with diets with different linseed oil (LO) levels during the period of 1 to 42 days of age. At initial and growing phase (1 to 21 days and 1 to 42 days of age, respectively) was used a completely randomized design with five treatments, six replicates and 50 birds per experimental unit, in that birds received diets formulated with different LO levels (2.0; 3.5; 5.0 and 6.5%). At the period of 1 to 42 days of age was observed that diets fatty acid profile reflected on bones fatty acid profile. The increase of linseed oil inclusion in diets promotes a linear reduction ($P < 0.05$) in 20:4n-6 concentration in bone cells, however, with less intensity along aging. The EPA, DPA and DHA concentrations reduced ($P < 0.05$) in bone cells along birds age, however, that effect was less intense with linseed oil addition in diets. The bone PGE₂ concentration was not influenced ($P > 0.05$) by evaluated treatments, in the period of 21 and 42 days of age. It was concluded that diet addition of 4.0% of linseed oil was effective to potentiate the incorporation of omega 3 chain long fatty acid in bone broiler chickens, in the period of 1 to 42 days of age.

Key words: arachidonic acid, EPA, lipids, prostaglandin E₂, tibia

Introdução

O crescimento de um animal depende particularmente do desenvolvimento muscular, sendo necessária à existência do suporte ósseo. No entanto, o que acontece é um comportamento característico de crescimento, em que o esqueleto, o músculo e o tecido adiposo são desenvolvidos sucessivamente, o que não significa dizer que o crescimento muscular se inicia quando pára o crescimento ósseo e pára quando se inicia o crescimento do tecido adiposo. O que se observa é um perfeito sincronismo de crescimento de cada sistema, priorizando-se o maior desenvolvimento de um ou outro tecido em um determinado momento (tempo, idade), de tal modo que o crescimento do animal, como um todo, seja harmonioso. Entretanto, para as linhagens modernas de frangos de corte, principalmente nos machos, a taxa de crescimento do tecido muscular é extremamente elevada, iniciando-se em uma fase muito precoce pós-eclosão sobre um suporte esquelético frágil (González & Mendonça Jr., 2006).

Isso sugere que a seleção genética para uma alta taxa de crescimento tem promovido maior peso do músculo do peito quando comparado aos músculos e ossos das pernas, aumentando os problemas de pernas em frangos devido à redistribuição desuniforme de peso (Yalcin et al., 2001). Os problemas ósseos e as infecções associadas têm contribuído para maior taxa de mortalidade, baixa produtividade e aumento nas condenações das carcaças (Rath et al., 2000).

Considerando o rápido desenvolvimento das atuais linhagens de frangos de corte, a inclusão de óleos vegetais ou gordura animal às dietas têm sido uma prática constante com o objetivo de atender as exigências energéticas das aves. De acordo com Zelenka et al. (2006), nas formulações de rações é importante considerar não apenas o nível de

inclusão de gordura, mas também sua composição em ácidos graxos, principalmente, os ácidos graxos linolêico e α -linolênico, considerados nutrientes essenciais.

Vários nutrientes influenciam o crescimento e o desenvolvimento dos ossos, e recentes pesquisas têm demonstrado que os lipídios da dieta possuem um importante papel na biologia óssea, visto que, são capazes de afetar a composição em ácidos graxos da membrana fosfolipídica e influenciar a atividade celular óssea (Watkins et al., 2000; Watkins, 2003).

Essa influência parece estar relacionada com a síntese de eicosanóides, principalmente, de prostaglandinas. A maioria dos eicosanóides (prostaglandinas, leucotrienos e lipoxinas) são sintetizados a partir do ácido araquidônico, sendo este precursor das prostaglandinas da série 2 (PGE_2), enquanto os ácidos γ -linolênico (20:3n-6) e eicosapentaenóico (20:5n-3) são substratos para a síntese das prostaglandinas das séries 1 (PGE_1) e 3 (PGE_3), respectivamente (Watkins, 2004).

Tanto a formação quanto a reabsorção óssea são influenciadas pela PGE_2 . Este efeito sobre o osso parece ser dependente da sua concentração, ou seja, em altas concentrações ela inibe a formação da matriz óssea, enquanto, em baixas concentrações a PGE_2 pode estimular a formação do osso (Watkins et al., 2000; Liu & Denbow, 2001).

Cada tipo de ácido graxo dietético influencia a utilização de outros ácidos graxos. Dessa forma, a ingestão de maiores concentrações de óleos ricos em ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3 resulta em redução na incorporação de ácido araquidônico nas membranas celulares e, concomitantemente, menor capacidade de síntese de eicosanóides provenientes desse ácido graxo (Calder, 1998; Liu, 2000).

O óleo de linhaça é caracterizado por ser muito insaturado e ter em sua composição alta concentração de α -linolênico (Kratzer & Vohra, 2005), precursor dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa da série ômega 3. Segundo López-Ferrer

et al. (2001), o enriquecimento dos tecidos com ácidos graxos poliinsaturados, principalmente, os da série ômega 3 provenientes de fontes de origem vegetal é menos efetivo do que os de origem marinha.

Embora trabalhos evidenciem o efeito positivo dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 sobre o desenvolvimento dos ossos em aves, nem sempre altos níveis de EPA, DPA e DHA, no fígado, correspondem à maior concentração desses ácidos graxos nos tecidos, e sugerem que a incorporação seletiva desses ácidos graxos gerados por processos de insaturação e alongamento nos tecidos ocorre com intuito de assegurar a funcionalidade dos mesmos (López-Ferrer et al., 2001).

Com base nessas informações, o objetivo desse trabalho foi verificar o efeito da adição de níveis crescentes de óleo de linhaça às rações sobre o perfil de ácidos graxos e a produção de PGE₂ em ossos de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá – UEM. Foram utilizados 1500 pintos de 1 dia de idade (peso médio de 45g), machos, da linhagem Cobb[®]. As aves foram alojadas em um galpão convencional dividido em boxes de 6,3 m² com cobertura de telha francesa e lanternin, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com tela de arame até o telhado, providas de cortinas laterais. Foi utilizada cama do tipo maravalha sobre o piso.

Na fase inicial, foram utilizados comedouros do tipo bandeja e bebedouros do tipo copo de pressão até o quinto dia de idade, sendo os comedouros substituídos gradativamente pelos comedouros tubulares e bebedouros automáticos do tipo pendular. Em cada boxe foram utilizados um círculo de proteção e uma campânula como fonte de

aquecimento para os pintainhos. Água e ração foram fornecidas à vontade em um programa de alimentação dividido em duas fases, sendo a inicial do 1º aos 21 dias de idade, e a de crescimento/acabamento, dos 22 a 43 dias de idade.

Foi adotado um programa contínuo de luz durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23 horas de luz/dia. As temperaturas médias dentro do galpão foram: máxima de $29,9 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$, mínima de $22,6 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa média de $48,2 \pm 2,7\%$.

As aves receberam rações formuladas com diferentes níveis de inclusão de óleo de linhaça sendo as mesmas distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, seis repetições e 50 aves/unidade experimental, conforme descrição a seguir:

A – 2,0% de óleo de soja (testemunha);

B – 2,0% de óleo de linhaça;

C – 3,5% de óleo de linhaça;

D – 5,0% de óleo de linhaça;

E – 6,5% de óleo de linhaça.

As rações experimentais foram formuladas para atender as exigências nutricionais das fases: inicial (1-21 dias de idade) e de crescimento/acabamento (22-43 dias de idade), de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005), de forma a serem isoenergéticas, isoaminoacídicas, isocálcicas e isofosfóricas. As composições percentual e calculada das rações experimentais encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

Foram avaliados o perfil de ácidos graxos e a concentração de prostaglandina (PGE_2) nos ossos, utilizando-se as tíbias direita e esquerda das aves. Para a realização dessas análises foi amostrada, aleatoriamente, uma ave/repetição aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade.

TABELA 1. Composições percentual e calculada das rações experimentais (1-21 dias)
 Table 1. Percentual and calculated compositions of experimental diets (1-21 days)

Ingredientes <i>Ingredients</i>	Níveis de inclusão de óleo de linhaça (%) <i>Linseed Oil Levels (%)</i>				
	Óleo de soja <i>Soybean Oil</i>	2,0	3,5	5,0	6,5
Milho, grão <i>Corn grain</i>	62,20	62,20	57,62	53,14	48,66
Farelo de soja, 45% <i>Soybean meal, 45%</i>	31,74	31,74	33,07	33,92	34,76
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	1,88	1,88	1,89	1,90	1,91
Calcário <i>Limestone</i>	1,04	1,04	1,02	1,01	1,00
Óleo <i>Oil</i>	2,00	2,00	3,50	5,00	6,50
Sal comum <i>Salt</i>	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
DL-metionina, 98% <i>DL-methionine, 98%</i>	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28
L-lisina HCl, 78% <i>L-Lysine HCl, 78%</i>	0,28	0,28	0,26	0,24	0,22
Inerte <i>Inert</i>	0,00	0,00	1,78	3,92	6,08
Suplemento mineral ¹ <i>Mineral Supplement</i>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. vitamínico ² <i>Vitamin supplement</i>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT <i>BHT</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados <i>Calculated values</i>					
PB (%) <i>Crude protein (%)</i>	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
EMA (kcal/kg) <i>Metabolizable energy (kcal/kg)</i>	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000
Met + Cis (%) <i>Methionine + cistine (%)</i>	0,897	0,897	0,897	0,897	0,897
Lisina (%) <i>Lysine (%)</i>	1,263	1,263	1,263	1,263	1,263
Cálcio (%) <i>Calcium (%)</i>	0,960	0,960	0,960	0,960	0,960
Fósforo disponível(%) <i>Available phosphorus (%)</i>	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Estrato etéreo (%) <i>Ether Extract (%)</i>	4,380	4,380	5,720	7,060	8,390
Sódio (%) <i>Sodium (%)</i>	0,222	0,222	0,222	0,222	0,222

¹ Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

¹ Mineral Supplement (Content per kg of premix): Iron 100,000 mg; Copper 16,000 mg; Iodine 2,400 mg; Zinc 100,000 mg; Manganese 140,000 mg; Selenium 400 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g

² Suplemento Vitamínico Inicial ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 7.000.000 UI; Vit. D3 2.200.000 UI; Vit.E 11.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 2.000 mg; Vit. B2 5.000 mg; Vit. B12 12.000 mcg; Vit. B6 3.000 mg; Niacina 35.000 mg; Ácido Pantotênico 13.000 mg; Ácido Fólico 800 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000g.

² Starting Mineral Supplement (Content per kg of premix): Vit. A 7,000,000 UI; Vit. D3 2,200,000 UI; Vit.E 11,000 mg; Vit. K3 1,600 mg; Vit. B1 2,000 mg; Vit. B2 5,000 mg; Vit. B12 12,000 mcg; Vit. B6 3,000 mg; Niacin 35,000 mg; Pantotenic Acid 13,000 mg; Folic Acid 800 mg; Antioxidant 100,000 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g.

TABELA 2. Composições percentual e calculada das rações experimentais (22-43 dias)
 Table 2. Percentual and calculated compositions of experimental diets (22-42 days)

Ingredientes <i>Ingredients</i>	Níveis de inclusão de óleo de linhaça (%) <i>Linseed Oil Levels (%)</i>				
	Óleo de soja <i>Soybean Oil</i>	2,0	3,5	5,0	6,5
Milho, grão <i>Corn grain</i>	68,43	68,43	64,40	59,91	55,43
Farelo de soja, 45% <i>Soybean meal, 45%</i>	25,80	25,80	27,40	28,25	29,09
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	1,66	1,66	1,68	1,69	1,69
Calcário <i>Limestone</i>	0,99	0,99	0,97	0,96	0,95
Óleo <i>Oil</i>	2,00	2,00	3,50	5,00	6,50
Sal comum <i>Salt</i>	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
DL-metionina, 98% <i>DL-methionine, 98%</i>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,26
L-lisina HCl, 78% <i>L-Lysine HCl, 78%</i>	0,34	0,34	0,30	0,28	0,27
Inerte <i>Inert</i>	0,00	0,00	0,97	3,13	5,28
Suplemento mineral ¹ <i>Mineral Supplement</i>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Supl. vitamínico ² <i>Vitamin Supplement</i>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT <i>BHT</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados <i>Calculated values</i>					
PB (%) <i>Crude protein (%)</i>	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
EMA (kcal/kg) <i>Metabolizable energy (kcal/kg)</i>	3.100	3.100	3.100	3.100	3.100
Met + Cis (%) <i>Methionine + cistine (%)</i>	0,825	0,825	0,825	0,825	0,825
Lisina (%) <i>Lysine (%)</i>	1,156	1,156	1,156	1,156	1,156
Cálcio (%) <i>Calcium (%)</i>	0,874	0,874	0,874	0,874	0,874
Fósforo disponível(%) <i>Available phosphorus (%)</i>	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406
Extrato etéreo (%) <i>Ether extract (%)</i>	4,550	4,550	5,910	7,250	8,580
Sódio (%) <i>Sodium (%)</i>	0,192	0,192	0,192	0,192	0,192

¹ Suplemento mineral ® (Conteúdo por kg de premix): Ferro 100.000 mg; Cobre 16.000 mg; Iodo 2.400 mg; Zinco 100.000 mg; Manganês 140.000 mg; Selênio 400 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

¹ Mineral Supplement (Content per kg of premix): Iron 100,000 mg; Copper 16,000 mg; Iodine 2,400 mg; Zinc 100,000 mg; Manganese 40,000 mg; Selenium 400 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g

² Suplemento Vitamínico Crescimento ® (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 6.000.000 UI; Vit. D3 2.000.000 UI; Vit.E 10.000 mg; Vit. K3 1.600 mg; Vit. B1 1.400 mg; Vit. B2 4.000 mg; Vit. B12 10.000 mcg; Vit. B6 2.000 mg; Niacina 30.000 mg; Ácido Pantotênico 11.000 mg; Ácido Fólico 600 mg; Antioxidante 100.000 mg; Veículo q.s.p. 1.000 g.

² Growth Mineral Supplement (Content per kg the premix): Vit. A 6,000,000 UI; Vit. D3 2,000,000 UI; Vit.E 10,000 mg; Vit. K3 1,600 mg; Vit. B1 1,400 mg; Vit. B2 4,000 mg; Vit. B12 10,000 mcg; Vit. B6 2,000 mg; Niacin 30,000 mg; Pantotenic Acid 11,000 mg; Folic Acid 600 mg; Antioxidant 100,000 mg; Vehicle q.s.p. 1,000 g.

Após o sacrifício por meio de atordoamento seguido de sangria (aprovado pelo Comitê de Ética Animal – Registro nº 069/2003), foram coletadas as tíbias esquerdas das aves, retirando-se os tecidos envolventes, e as amostras ficaram congeladas (-18° C) até o início das análises do perfil de ácidos graxos. As tíbias direitas foram utilizadas para a determinação de PGE₂, e processadas logo após a coleta.

Determinação do perfil lipídico

As análises referentes ao perfil lipídico das rações e dos ossos foram realizadas no Laboratório de Química da Universidade Estadual de Maringá. A extração de ácidos graxos do osso cortical foi realizada de acordo com as metodologias descritas por Bligh & Dyer (1959) e Liu (2000). A tíbia esquerda foi descongelada, retirando-se o periósteo e a medula óssea, e lavada com soro fisiológico (0,9%) para retirada das células medulares remanescentes. Após a limpeza, o osso foi envolvido em papel alumínio, congelado em N líquido e, posteriormente, triturado em gral de porcelana com auxílio de um pistilo. A cada amostra, o pistilo era lavado com água deionizada e a mistura clorofórmio: metanol.

Após a trituração, as amostras de ossos foram pesadas e colocadas em tubos de vidro para extração da matéria graxa total, adicionando-se 21 mL da solução clorofórmio: metanol (2:1, ou seja, 14 mL de clorofórmio e 7 mL de metanol), onde permaneceram em geladeira, por 48 horas. Após o período, o sobrenadante da solução foi filtrado, com auxílio de papel filtro quantitativo, e recuperado em funil de separação de 250 mL. Após a filtração, ao tubo de extração foram adicionados mais 14 mL da mistura clorofórmio: metanol, homogeneizando os fragmentos ósseos e a solução, e filtrando-se novamente após prévia agitação. O mesmo procedimento foi repetido por

mais duas vezes, adicionando-se 12 mL e 6 mL da solução clorofórmio: metanol aos tubos de extração que contém fragmentos ósseos.

O processo de extração dos lipídios totais das rações experimentais foi efetuado segundo Bligh & Dyer (1959), com correção da umidade para 80%, que propõem a mistura clorofórmio: metanol na proporção 2:1 (v/v). Pesou-se cerca de 10 g ($\pm 0,1$ mg) de amostra em béquer de 250 mL, adicionaram-se 60 mL de solução clorofórmio-metanol e foi agitado vigorosamente por 2 minutos. Depois, foi adicionado à mistura 20 mL de clorofórmio, agitando-se por 30 segundos, 20 mL de água deionizada, agitando-se por mais 30 segundos. A mistura foi filtrada a vácuo em funil de Buchner com papel de filtro quantitativo. Ao resíduo, retornando ao béquer, foram adicionados 20 mL de clorofórmio, agitando-se por dois minutos. O procedimento de filtração foi repetido, e a solução resultante foi transferida para um funil de separação de 250 mL.

Para a determinação do perfil lipídico das rações experimentais, dos ossos e das diferentes fontes de óleo, após a separação das fases, a inferior contendo o clorofórmio e matéria graxa, foi drenada em erlenmeyer de 250 mL previamente pesado e o solvente eliminado em evaporador rotatório, com banho a 30° C. No caso dos ossos, adicionaram-se 25 mL de solução salina (9%) para que a separação das fases fosse otimizada. O teor de lipídios totais foi determinado gravimetricamente.

A transesterificação dos triacilgliceróis dos ossos, das fontes de óleo e das rações foi realizada conforme o método 5509 da ISO (1978). A matéria lipídica extraída foi transferida para tubos de 10 mL com tampa rosqueável, adicionados 2 mL de n-heptano e a mistura agitada até completa dissolução da matéria graxa. Em seguida, foram adicionados 2 mL de KOH (2 mol.L^{-1}) em metanol, o frasco foi tampado e a mistura submetida à agitação vigorosa (± 3 minutos), até a obtenção de uma solução levemente turva. Após a ocorrência da separação das fases, a superior (n-heptano e ésteres

metílicos de ácidos graxos) foi transferida para microtubos de 5 mL de capacidade, fechados hermeticamente e armazenados em congelador (- 18° C) para posterior análise cromatográfica.

Os ésteres de ácidos graxos, tanto dos ossos como das fontes de óleo e das rações, foram analisados por meio do cromatógrafo gasoso, equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida. As áreas de picos foram determinadas por meio do Integrador-processador CG-300 (Instrumentos Científicos – CG) e foi realizada a identificação dos picos por meio da comparação dos tempos de retenção com os padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma, EUA).

Determinação da concentração de prostaglandina (PGE₂)

A determinação da concentração de PGE₂ em culturas de células ósseas foi realizada no Laboratório de Imunologia Básica da Universidade Estadual de Maringá, de acordo com as metodologias descritas por Watkins et al. (1996), Li & Watkins (1998) e Liu & Denbow (2001).

A tíbia direita das aves, obtida aos 21 e 42 dias de idade, após a limpeza dos tecidos envolventes, foi dividida longitudinalmente e as células da medula óssea removidas por meio da lavagem com NaCl (0,9%). Retirou-se uma secção da diáfise do osso (\pm 20 mm de comprimento) que foi imersa em 2 mL de solução salina balanceada de Hank's, e a mesma foi agitada por 2 horas a 37°C. Após o período de incubação, o meio de cultura de células foi coletado e estocado a - 80°C para posterior análise de PGE₂. A PGE₂ foi mensurada por meio de imunoensaio utilizando EIA *kits*® (Cayman). Os valores de PGE₂ foram expressos por unidades de peso de tecido ósseo. O anticorpo

anti-PGE₂ possui as seguintes especificidades: PGE₂ – 100%, PGE₃ – 43 %, PGE₁ – 18,7% e PGF_{2α} < 0,01%.

Para avaliação da composição lipídica dos ossos foi admitida à distribuição normal e os efeitos da idade e do nível de óleo de linhaça sobre o perfil de ácidos graxos na tíbia das aves foram avaliados por meio da análise de superfície de resposta; considerando os seguintes ácidos graxos: 18:2n-6, 18:3n-3, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-3, o total de ácidos graxos ômega 6 e 3, visto que os mesmos são importantes por atuarem como precursores e controladores da síntese de substâncias relacionadas com o metabolismo ósseo. Cada ácido graxo foi avaliado individualmente, e o modelo estatístico considerou os efeitos do nível de óleo de linhaça, da idade e as interações nível de óleo de linhaça x idade.

A análise estatística referente à concentração de PGE₂ foi efetuada por meio do método de modelos lineares generalizados (Nelder & Wedderburn, 1972), admitindo distribuição gama com função de ligação recíproca. O modelo estatístico utilizado não considerou o efeito da idade e os efeitos de tratamento foram testados por meio do teste de T de Student (distribuição gama) a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

As porcentagens de ácidos graxos da fração lipídica do óleo de linhaça e das rações experimentais estão apresentadas nas Tabelas 3, 4 e 5.

Os dados demonstraram que a inclusão níveis crescentes de óleo de linhaça às rações promoveu mudanças no perfil de ácidos graxos das rações experimentais, com aumento e redução nas concentrações dos ácidos linolêico (18:2n-6) e α -linolênico (18:3n-3), respectivamente.

TABELA 3. Perfil de ácidos graxos do óleo de linhaça adicionado às rações experimentais¹

Table 3. Fatty acid profile of linseed oil added to experimental diets

Ácidos graxos <i>Fatty acids</i>	Óleo de linhaça <i>Linseed Oil</i>
14:0	ND
14:n-7	ND
16:0	5,98
16:n-9	ND
16:n-7	ND
18:0	4,81
18:n-9	20,27
18:n-7	ND
18:2n-6	13,39
20:0	0,15
18:3n-3	55,40
Total	100

¹ Dados obtidos com base na porcentagem de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais.¹ Data based in percentage of each fatty acid in relation of total lipids

ND - não-detectado; ND - no detected

TABELA 4. Perfil de ácidos graxos das rações experimentais utilizadas na fase inicial (1-21 dias de idade)¹

Table 4. Fatty acids profile of experimental diets used in starting phase (1 to 21 days of age)

Ácidos graxos <i>Fatty acids</i>	Óleo de soja <i>Soybean Oil</i>	Nível de inclusão de óleo de linhaça <i>Linseed oil inclusion level</i>			
		2,0	3,5	5,0	6,5
14:0	1,40	1,45	1,35	1,12	0,82
14:n-7	0,35	0,05	ND	ND	ND
16:0	14,35	12,89	10,92	10,39	8,96
16:n-9	ND	ND	ND	ND	ND
16:n-7	0,40	0,30	0,16	0,17	0,07
18:0	5,13	6,62	6,62	6,94	5,97
18:n-9	26,94	25,67	23,07	21,98	22,18
18:n-7	1,78	1,43	1,23	1,13	1,26
18:2n-6	46,47	35,98	28,39	23,86	22,38
18:3n-3	2,69	15,12	27,80	34,23	38,09
20:0	0,49	0,49	0,46	0,18	0,27
AGPI	49,16	51,10	56,19	58,09	60,47
AGMI	29,47	27,45	24,46	23,28	23,51
AGS	21,37	21,45	19,35	18,63	16,02
TOTAL	100	100	100	100	100
n-6	46,47	35,98	28,39	23,86	22,38
n-3	2,69	15,12	27,80	34,23	38,09
AGPI/AGS ²	2,30	2,38	2,90	3,12	3,77
n-6/n-3 ³	17,28	2,38	1,02	0,70	0,59

¹ Dados obtidos com base na porcentagem de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais.¹ Data based in percentage of each fatty acid in relation of total lipids² AGPI/AGS: Relação ácidos graxos poliinsaturados: ácidos graxos saturados.² AGPI/AGS: Ratio of polyunsaturated fatty acids: saturated fatty acids³ n-6/n-3: Relação ácidos graxos ômega 6: ácidos graxos ômega 3.³ n-6/n-3: Ratio of omega 6: omega 3 fatty acids

ND - não-detectado; ND - no detected

TABELA 5. Perfil de ácidos graxos das rações experimentais utilizadas na fase de crescimento (22-42 dias de idade)¹

Table 5. Profile of fatty acids of experimental diets used in growing phase (22 to 42 days of age)

Ácidos graxos Fatty acids	Óleo de soja Soybean Oil	Nível de inclusão de óleo de linhaça Linseed oil inclusion level			
		2,0	3,5	5,0	6,5
14:0	1,08	1,20	0,68	0,69	0,41
14:n-7	0,06	ND	0,04	ND	ND
16:0	11,96	10,97	9,85	9,21	7,94
16:n-9	ND	ND	ND	ND	ND
16:n-7	0,05	ND	0,05	0,05	0,05
18:0	3,49	4,64	4,93	5,48	5,01
18:n-9	27,86	26,97	25,20	23,93	22,77
18:n-7	1,32	1,19	1,23	1,19	1,20
18:2n-6	50,89	36,75	30,24	25,99	23,24
18:3n-3	2,72	17,77	27,33	33,27	39,05
20:0	0,57	0,51	0,45	0,19	0,33
AGPI	53,61	54,52	57,57	59,26	62,29
AGMI	29,32	28,16	26,52	25,17	24,02
AGS	17,10	17,32	15,91	15,57	13,69
TOTAL	100	100	100	100	100
n-6	50,89	36,75	30,24	25,99	23,24
n-3	2,72	17,77	27,33	33,27	39,05
AGPI/AGS ²	3,14	3,15	3,62	3,81	4,55
n-6/n-3 ³	18,71	2,07	1,11	0,78	0,60

¹ Dados obtidos com base na porcentagem de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais.¹ Data based in percentage of each fatty acid in relation of total lipids² AGPI/AGS: Relação ácidos graxos poliinsaturados: ácidos graxos saturados.² AGPI/AGS: Ratio of polyunsaturated fatty acids: saturated fatty acids³ n-6/n-3: Relação ácidos graxos ômega 6: ácidos graxos ômega 3.³ n-6/n-3: Ratio of omega 6: omega 3 fatty acids

ND - não-detectado; ND - no detected

Essas alterações refletiram nas relações entre o total de ácidos graxos da série ômega 6 e 3, visto que, os ácidos 18:2n-6 e 18:3n-3 foram os representantes dessas classes encontrados em maiores proporções nas rações experimentais.

A porcentagem de área dos ácidos graxos ômega 6 determinada na região cortical da tibia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade está apresentada nas Figuras 1 e 2.

Os resultados demonstraram aumento linear ($P < 0,05$) na concentração de 18:2n-6 com o avanço da idade, entretanto, com a inclusão de níveis crescentes de óleo de

linhaça às rações a concentração de 18:2n-6 na tibia apresentou comportamento quadrático ($P < 0,05$), demonstrando valor mínimo em nível de 5,02% de óleo de linhaça.

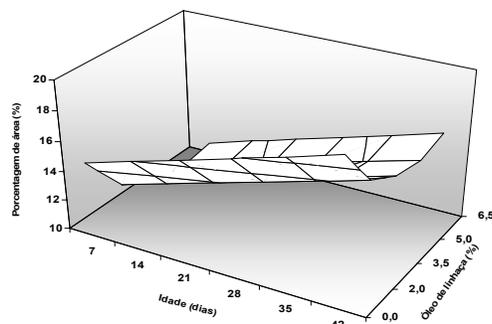


FIGURA 1. Porcentagem de área do ácido linolêico (18:2n-6) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 1. *Linoleic acid (18:2n-6) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids).*

$$\hat{Y} = 14,0404 + 0,134729 * I - 1,86017 * N + 0,18511 * N^2$$

($R^2 = 0,99$); I = idade (age), N = nível de óleo de linhaça (linseed oil level)

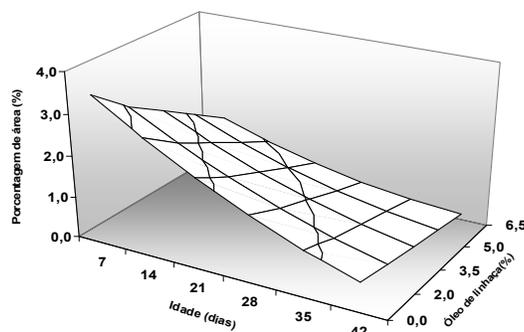


FIGURA 2. Porcentagem de área do ácido araquidônico (20:4n-6) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais)

Figure 2. *Arachidonic acid (20:4n-6) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids)*

$$\hat{Y} = 4,39184 - 0,121147 * I + 0,00079883 * I^2 - 0,396032 * N$$

+ 0,00739008 * I * N ($R^2 = 0,99$); I = idade (age), N = nível de óleo de linhaça (linseed oil level)

Considerando que as rações foram elaboradas com outros alimentos que também contribuíram para a inclusão desse ácido graxo às células ósseas, observou-se que a adição de óleo de linhaça às rações, nos níveis de inclusão utilizados, não promoveu

redução drástica na concentração do ácido linolêico nos ossos. Isso pode ser comprovado ao avaliar o perfil de ácidos graxos das rações experimentais, visto que, as concentrações do 18:2n-6 nas rações que contém 5% e 6,5% foram semelhantes, o que poderia justificar os resultados obtidos quanto ao grau de incorporação desse ácido graxo na tibia.

Verificou-se efeito quadrático ($P < 0,05$) em função da idade para a concentração do ácido araquidônico (20:4n-6) nos ossos, produto de reações de insaturação e alongamento do ácido linolêico. Contudo, com o aumento na inclusão de óleo de linhaça nas rações, os valores determinados para os pontos de mínimo reduziram-se em virtude da interação ($P < 0,05$) de forma que a inferência para cada ponto encontrou-se fora do período analisado (1 a 42 dias de idade).

Por meio da análise de superfície, observou-se que a adição de níveis crescentes de óleo de linhaça nas rações reduziu a concentração do 20:4n-6 na tibia das aves em todas as idades avaliadas, entretanto, esse efeito tornou-se menos intenso ao longo da idade por causa da menor incorporação desse ácido graxo na tibia das aves. Considerando que a mesma seqüência de enzimas estão envolvidas nos processos de insaturação e alongamento da cadeia dos ácidos graxos ômega 3 e 6 no fígado das aves, justifica-se esse resultado, em função da competição entre os ácidos graxos 18:2n-6 e 18:3n-3 por essas enzimas.

De acordo com Liu (2000), a enzima Δ^6 -desaturase é considerada limitante na seqüência de reações necessárias para produção de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa e sua preferência pelo substrato segue a seguinte ordem: ácido graxo α -linolênico > ácido graxo linolêico > ácido graxo oléico. Dessa forma, o aumento na concentração do ácido graxo 18:3n-3 nas rações pode interferir nos processos de

insaturação e alongamento do 18:2n-6, reduzindo a concentração do 20:4n-6 nos tecidos.

Os ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 e 6 também podem competir por um limitado número de sítios de esterificação durante a biossíntese dos fosfolípidios (Sardesai, 1992). Portanto, quando se determina a quantidade de ácidos graxos ômega 3 necessária para suprimir o metabolismo do ácido araquidônico, não apenas as concentrações absolutas mas também as relações ômega 3:ômega 6 devem ser consideradas (Boudreau et al., 1991).

Resultados semelhantes quanto à redução na incorporação do ácido araquidônico nos ossos de aves com a adição de ácidos graxos ômega 3 nas rações foram obtidos por Watkins et al. (1996, 1997), contudo, nesses trabalhos foram utilizadas fontes de origem marinha, ricas em EPA, DPA e DHA. Segundo López-Ferrer et al. (2001), o enriquecimento dos tecidos com ácidos graxos poliinsaturados, principalmente, os de cadeia longa da série ômega 3 provenientes de fontes de origem vegetal é menos efetivo do que os de origem marinha. Esse fato pode estar relacionado com a atividade da enzima Δ^6 -desaturase, fundamental nos processos de insaturação e alongamento dos ácidos graxos, no fígado.

De acordo com Garg et al. (1990), o mecanismo de inibição da atividade da Δ^6 -desaturase é diferente quando 18:3n-3 ou o 20:5n-3 estão presentes na dieta. O EPA parece inibir os processos de insaturação e alongamento da cadeia do 18:2n-6 agindo como um análogo do 20:4n-6, enquanto que a inibição realizada pelo 18:3n-3 ocorre através da competição pela Δ^6 -desaturase. Dessa forma, a inibição da Δ^6 -desaturase pelo 18:3n-3 dependeria da disponibilidade relativa dos ácidos 18:2n-6 e 18:3n-3. Os autores complementam que o 18:3n-3 presente na dieta é tão eficiente quanto o 20:5n-3 em diminuir a concentração do 20:4n-6, desde que o conteúdo de 18:2n-6 seja baixo.

A porcentagem de área dos ácidos graxos ômega 3 determinada no osso cortical da tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade, é apresentada nas Figuras 3, 4, 5, 6 e 7.

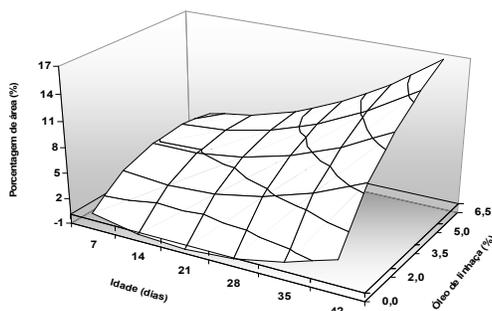


FIGURA 3. Porcentagem de área do ácido linolênico (18:3n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 3. *Linolenic acid (18:3n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids)*

$$\hat{Y} = 2,67982 - 0,313641 * I + 0,0075984 * I^2 + 1,53889 * N - 0,191438 * N^2 + 0,0422862 * I * N$$

($R^2=0,99$); I = idade (age), N = nível de óleo de linhaça (linseed oil level)

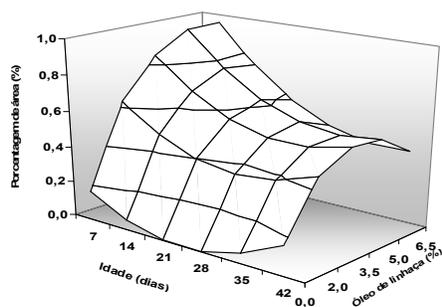


FIGURA 4. Porcentagem de área do ácido eicosapentaenóico (20:5n-3) determinada na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 4. *Eicosapentaenoic acid (20:5n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids)*

$$\hat{Y} = 0,330427 - 0,0271679 * I + 0,000552594 * I^2 + 0,294504 * N - 0,0241287 * N^2 - 0,00238192 * I * N$$

($R^2=0,99$); I = idade (age), N = nível de óleo de linhaça (linseed oil level)

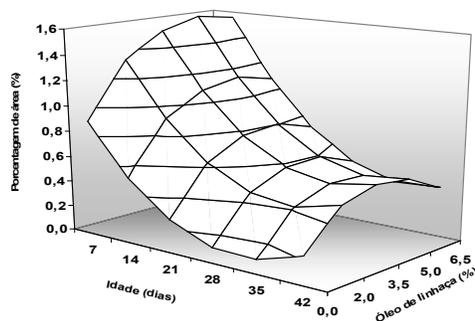


FIGURA 5. Porcentagem de área do ácido docosapentaenoico (22:5n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 5. Docosapentaenoic acid (22:5n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids).

$$\hat{Y} = 1,41468 - 0,0814685 * I + 0,0012618 * I^2 + 0,278095 * N - 0,0251336 * N^2 - 0,0020917 * I * N \quad (R^2 = 0,99); \quad I = \text{idade (age)}, \quad N = \text{nível de óleo de linhaça (linseed oil level)}$$

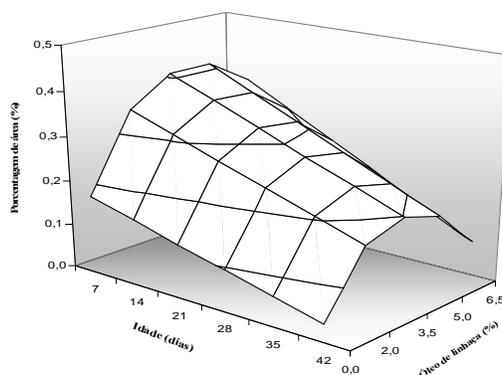


FIGURA 6. Porcentagem de área do ácido docosahexaenóico (22:6n-3) determinada na tibia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos em relação aos lipídios totais).

Figure 6. Docosahexaenoic acid (22:6n-3) percentage area determined in broilers tibia in the period of 1 to 42 days of age (data obtained in relation of total lipids).

$$\hat{Y} = 0,202849 - 0,0038437 * I + 0,115525 * N - 0,0130126 * N^2 - 0,000597692 * I * N \quad (R^2 = 0,99); \quad I = \text{idade (age)}, \quad N = \text{nível de óleo de linhaça (linseed oil level)}$$

A equação ajustada para a porcentagem de área do ácido α -linolênico nos ossos demonstrou que aos 7,23 dias de idade as aves apresentaram concentração máxima com 4,82% de óleo de linhaça e esse efeito foi mantido com o avanço da idade dos animais.

Os resultados evidenciaram, por meio da análise de superfície de resposta, que o efeito da adição de níveis crescentes de óleo de linhaça nas rações sobre a concentração

do ácido 18:3n-3 no osso cortical da tíbia foi potencializado na fase final de criação. Esse resultado sugere que a incorporação dos ácidos graxos nos tecidos é dependente do tempo de fornecimento das rações, conforme relatado por Liu & Denbow (2001). Segundo os autores, a composição lipídica dos ossos é influenciada pelo perfil de ácidos graxos da ração, contudo, durante o período pós-eclosão, as aves refletem no tecido ósseo o perfil lipídico das rações fornecidas às matrizes por cerca de uma semana, diminuindo com a idade e desaparecendo completamente com duas semanas de idade.

Para os ácidos graxos 20:5n-3 e 22:5n-3, produtos de reações de insaturação e alongamento do ácido linolênico, verificou-se interação ($P < 0,05$) entre idade e nível de óleo de linhaça, de forma que a concentração desses ácidos graxos diminuiu ao longo da idade, porém de maneira menos intensa quando as aves foram alimentadas com 4,02 e 4,05% de óleo de linhaça nas rações, respectivamente.

A interação entre idade e nível de óleo de linhaça ($P < 0,05$) também foi observada para o ácido graxo 22:6n-3, sugerindo que a adição crescente de óleo de linhaça às rações promoveu efeito quadrático sobre a sua concentração nos ossos, contudo, foram necessários menores níveis de óleo de linhaça nas rações para potencializar maiores concentrações desse ácido graxo na tíbia das aves por causa da redução na sua incorporação ao longo da idade.

O comportamento observado para a incorporação dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa da série ômega 3 (EPA e DPA) nos ossos demonstrou que a inclusão mínima de 4% de óleo de linhaça nas rações foi suficiente em promover a maior incorporação desses ácidos graxos nos ossos das aves, entretanto, as concentrações máximas de EPA, DPA e DHA na tíbia reduziram ao longo da idade.

Esses resultados estão em conformidade com Rymer & Givens (2005) que relataram que embora as aves sejam hábeis em sintetizar EPA e DHA a partir do ácido

α -linolênico, nem sempre o aumento na concentração desse precursor na dieta resulta em aumento na incorporação desses ácidos graxos nos tecidos. Os autores descrevem que esse fato pode estar relacionado com o acúmulo do ácido α -linolênico ou dos ácidos graxos EPA e DHA, ou ainda, com o aumento da oxidação do ácido α -linolênico no fígado.

López-Ferrer et al. (2001) complementam que nem sempre altos níveis de EPA, DPA e DHA, no fígado, correspondem à maior concentração desses ácidos graxos nos tecidos, sugerindo que a incorporação seletiva dos ácidos graxos gerados por meio de processos de insaturação e alongamento pelos tecidos ocorrem com intuito de assegurar a funcionalidade dos mesmos.

Os resultados referentes ao total de ácidos graxos poliinsaturados ômega 6 e 3 no osso cortical da tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias idade, são apresentados nas Figuras 7 e 8.

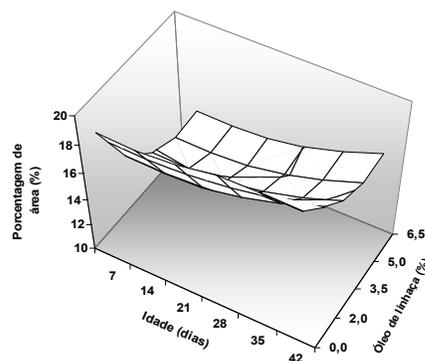


FIGURA 7. Total de ácidos graxos ômega 6 determinado na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área de cada ácido graxo em relação aos lipídios totais)

Figure 7. Total omega 6 fatty acids determined in broilers tibia in the period of 1 to 42 days of age (data based in percentage area of each fatty acid in relation of total lipids)
 $\hat{Y} = 19,8047 - 0,074185 * I + 0,00286169 * I^2 - 2,22181 * N + 0,200866 * N^2$ ($R^2 = 0,99$); I = idade (age), N = nível de óleo de linhaça (linseed oil level)

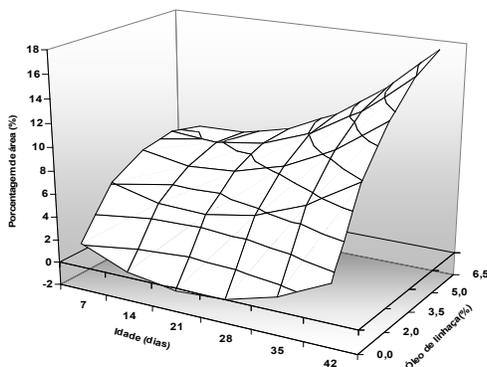


FIGURA 8. Total de ácidos graxos ômega 3 determinado na tíbia de frangos de corte, no período de 1 a 42 dias de idade (dados obtidos com base na porcentagem de área em relação aos lipídios totais).

Figure 8. Total omega 3 fatty acids determined in broilers tibia in the period of 1 to 42 days of age (data based in percentage area of each fatty acid in relation of total lipids).
 $\hat{Y} = 4,63743 - 0,427153 * I + 0,00943388 * I^2 + 2,227 * N - 0,253711 * N^2 + 0,0372147 * I * N$
 ($R^2 = 0,99$); I = idade (age), N = nível de óleo de linhaça (linseed oil level)

Em relação à concentração total dos ácidos graxos ômega 6, observou-se efeito quadrático ($P < 0,05$) para a idade e para o nível de óleo de linhaça nas rações, de forma que aos 12,96 dias a inclusão de 5,53 % de óleo de linhaça nas rações como fonte de ácido α -linolênico, precursor dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa da série ômega 3, foi suficiente em reduzir a concentração total dos ácidos graxos ômega 6 nas células ósseas.

Para o total de ácidos graxos ômega 3, os dados evidenciaram que o ponto de máxima foi obtido aos 12,23 dias com 5,28 % de óleo de linhaça nas rações e esse efeito foi mantido para todo o período avaliado. Esse resultado sugere mais uma vez que o efeito dos lipídios provenientes da alimentação materna sobre o perfil de ácidos graxos dos ossos das aves diminui com a idade demonstrando que os efeitos tornam-se evidentes a partir da segunda semana de idade, conforme discutido por Liu & Denbow (2001).

Esses valores encontram-se próximos aos obtidos para o 18:3n-3, pelo fato desse ácido graxo ter sido incorporado em maior concentração nas células ósseas, quando comparado aos outros ácidos graxos da série ômega 3 analisados.

As médias referentes à concentração de PGE₂, determinada na região cortical da tíbia de frangos aos 21 e 42 dias de idade, estão apresentadas na Tabela 6.

Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos para a concentração de PGE₂ na tíbia de frangos alimentados com rações que contém níveis crescentes de óleo de linhaça, aos 21 e 42 dias de idade.

TABELA 6. Médias referentes à concentração de prostaglandina E₂ (PGE₂) determinada na tíbia de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de óleo de linhaça nas rações, aos 21 e 42 dias de idade

Table 6. Means of prostaglandin (PGE₂) concentration determined in broilers tibia, fed with different linseed oil levels in diets at 21 and 42 days of age

Óleo de linhaça (%) <i>Linseed oil (%)</i>	Prostaglandina (ng/ g osso) ¹ <i>Prostaglandin (ng/ g bone)</i>	
	21 dias <i>21 days</i>	
0,0	182,50	
2,0	152,50	
3,5	100,70	
5,0	151,90	
6,5	116,50	
	42 dias <i>42 days</i>	
0,0	118,24	
2,0	86,14	
3,5	119,42	
5,0	102,48	
6,5	69,37	

¹Y ~ gamma, em que $E(Y_{ij}) = (\eta)^{-1}$

¹Y ~ gamma, in that $E(Y_{ij}) = (\eta)^{-1}$

Esses resultados discordam dos encontrados por Watkins et al. (1996, 1997) e Liu et al. (2004) para frangos de corte e codornas, respectivamente, que verificaram que a adição de ácidos graxos ômega 3 às rações reduz a concentração de PGE₂ em culturas de células ósseas.

Considerando que a produção de PGE₂ nos ossos pode ser alterada pela inibição competitiva do EPA e o DHA pela oxigenação do ácido araquidônico por meio da

enzima cicloxigenase (Watkins et al., 2003), ao avaliar o perfil de ácidos graxos nos ossos, observou-se redução na concentração de 20:4n-6 com a adição crescente de óleo de linhaça às rações, contudo, os valores encontrados tanto para esse ácido graxo, quanto o 20:5n-3 e 22:6n-3 foram inferiores aos relatados na literatura. Soma-se a isso o fato das rações experimentais terem sido elaboradas com outros ingredientes (antioxidantes, vitaminas e minerais) que também podem influenciar sobre a formação dos eicosanóides, tais como as prostaglandinas (Sardesai, 1992).

Embora vários componentes localizados possam agir sobre as células ósseas, as prostaglandinas mostraram ser os principais mediadores da função celular óssea, uma vez que sua biossíntese e liberação pelas células ósseas e tecidos associados podem ser induzidas por várias citocinas e fatores sistêmicos (Watkins et al., 2001), contudo, a síntese de PGE₂ é regulada pela disponibilidade de substrato, atividade das enzimas envolvidas no processo (fosfolipases A₂ e C, cicloxigenase e lipoxigenase), tipo de célula e natureza do estímulo (Calder, 1998).

Considerando que as aves foram criadas a campo, com maiores restrições em relação ao controle ambiental, outras variáveis poderiam estar interferindo sobre o metabolismo dos animais, e, conseqüentemente, sobre a produção de PGE₂, que justificam os resultados encontrados.

Conclusões

O perfil lipídico das rações refletiu sobre o perfil de ácidos graxos das células ósseas em frangos de corte, entretanto, esse efeito tornou-se mais evidente a partir da segunda semana de idade.

O aumento do nível de inclusão de óleo de linhaça às rações promoveu redução linear na concentração do 20:4n-6 nas células ósseas, contudo, com menor intensidade ao longo da idade.

A inclusão de 4,0% mostrou-se eficiente em potencializar a incorporação dos ácidos graxos de cadeia longa ômega 3 nos ossos dos frangos, no período de 1 a 42 dias de idade, porém, a incorporação de EPA, DPA e DHA nos ossos reduziu com o avanço da idade das aves.

A inclusão de até 6,5% de óleo de linhaça às rações de frangos de corte não influenciou sobre a concentração de PGE₂ nos ossos, aos 21 e 42 dias de idade.

Literatura Citada

- 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.
- BOUDREAU, M. D.; CHANMUGAM, P.S.; HART, S.B. et al. Lack of dose response by different levels of dietary n-3 fatty acids at a constant n-3/n-6 fatty acid ratio in suppressing eicosanoid biosynthesis from arachidonic acid. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.54, p.111-116, 1991.
- CALDER, P.C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.31, p.467-490, 1998.
- GARG, M.L.; THOMSON, A.B.R.; CLANDININ, M.T. Interactions of saturated, n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids to modulate arachidonic acid metabolism. **Journal of Lipid Research**, v.31, p.271-277, 1990.
- GONZALES, E.; MENDONÇA JR, C.X. Problemas locomotores em frangos de corte. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 7., 2006, Chapecó. **Anais...** Chapecó: CNPSA, 2006. p.79-94.
- ISO INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Animal and vegetable fats and oils preparation of methyl esters of fatty acids**. Geneve: ISO. Method ISO 5509, 1978. p. 1-6.
- KRATZER, F.H.; VOHRA, P. **The use of flaxseed as a poultry feedstuff**. Disponível em: <<http://animalscience.ucdavis.edu/avian/pfs21.htm>> Acesso em: 17 mar 2005.

- LI, Y.; WATKINS, B.A. Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E₂ biosynthesis in rats n-6 or n-3 fatty acids. **Lipids**, v.33, n.4, p.417-425, 1998.
- LIU, D. **The effects of dietary lipids on bone chemical, mechanical, and histological properties in japanese quail (*Coturnix c. japonica*)**. 2000. 148 f. Thesis (Doctor of Philosophy in Animal and Poultry Sciences - Nutrition and Physiology) - Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 2000.
- LIU, D.; DENBOW, D.M. Maternal dietary lipids modify composition of bone lipids and ex vivo prostaglandin E₂ production in early postnatal Japanese quail. **Poultry Science**, v.80, n.9, p.1344-1352, 2001.
- LIU, D.; VEIT, H.P.; DENBOW, D.M. Effects of long-term dietary lipids on matures bone mineral content, collagen, crosslinks, and prostaglandin E₂ production in Japanese quail. **Poultry Science**, v.83, p.1876-1883, 2004.
- LÓPEZ-FERRER, S.; BAUCCELLS, M.D.; BARROETA, A.C. et al. N-3 enrichment of chicken meat. 2. Use of precursors of long-chain polyunsaturated fatty acids: linseed oil. **Poultry Science**, v.80, p.753-761, 2001.
- MCCULLOCH, C.E.; SEARLE, S.R. **Generalized, linear and mixed models**. New York: John Wiley, 2001. 325p.
- NELDER, J.A.; WEDDERBURN, W.M. Generalized linear models. **Journal Royal Statistic Society**, v.135, n.3, p.370-384, 1972.
- RATH, N.C.; HUFF, G.R.; HUFF, W.E. et al. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v.79, p.1024-1032, 2000.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. 186p.
- RYMER, C.; GIVENS, D.I. N-3 fatty acid enrichment of edible tissue of poultry: a review. **Lipids**, v.40, n.2, p.121-130, 2005.
- SARDESAI, V.M. Biochemical and nutritional aspects of eicosanoids. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.3, p.562-579, 1992.
- WATKINS, B.A. **Longitudinal growth and modeling of bone**. Disponível em: <http://www.novusint.com/Public/Library/Techpaper.asp?ID=9ift.confex.com/ift/200/techprogram/paper_4941.htm>. Acesso em: 12 fev. 2003.
- WATKINS, B.A. **Essential fatty acids in poultry nutrition: their importance, metabolic and physiological significance and feeding considerations**. Disponível em: <www.novusint.com/Public/Library/DocViewer.asp?ID=94>. Acesso em: 14 set. 2004.
- WATKINS, B.A.; SHEN, C.; ALLEN, K.G.D. et al. Dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated and acetylsalicylic acid alter *ex vivo* PGE₂ biosynthesis, tissue IGF-I levels, and bone morphometry in chicks. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.11, n.9, p.1321-1332, 1996.
- WATKINS, B.A.; SHEN, C.; McMURTRY, J.P. et al. Dietary lipids modulate bone prostaglandin E₂ production, insulin-like growth factor – I concentration and formation rate in chicks. **Journal of Nutrition**, v.127, n.6, p.1084-1091. 1997.

- 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. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and skeletal health. **Journal of Experimental Medicine**, v.226, n.6, p.485-497, 2001.
- 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.
- YALCIN, S.; ÖZKAN, S.; COSKUNER, E. et al. Effects of strain, maternal age and sex on morphological characteristics and composition of tibial bone in broilers. **British Poultry Science**, v.42, n.2, p.184-190, 2001.
- ZELENKA, J. Linseed oils with different fatty acid patterns in the diet of broiler chickens. **Czech Journal of Animal**, v.51, n.3, p.117-121, 2006.

VII – CONCLUSÕES GERAIS

A inclusão de óleo de linhaça nas rações demonstrou ser benéfica para o desempenho e a mineralização óssea de frangos de corte na fase inicial de criação (1 a 7 dias de idade), entretanto, os parâmetros de crescimento e qualidade óssea não foram influenciados pelas diferentes fontes de óleo estudadas, inclusive àquelas com maiores concentrações de ômega 6, sugerindo que são necessários maiores níveis de inclusão ou períodos de fornecimento superiores para que frangos de corte apresentem respostas quanto a essas variáveis.

O perfil lipídico das rações baseadas em diferentes fontes de óleo e àquelas que contêm níveis crescentes de óleo de linhaça refletiu na composição de ácidos graxos do osso cortical da tíbia dos frangos, no período inicial e de crescimento.

A poliinsaturação dos ácidos graxos ômega 3 diminuiu com o avanço da idade, demonstrando que a incorporação desses ácidos graxos de cadeia longa depende da necessidade do tecido ósseo.

A adição de óleo de linhaça nas rações reduziu a concentração de PGE₂ no tecido ósseo de frangos de corte, aos 21 dias de idade, contudo, esse efeito só foi significativo aos 42 dias de idade.

A inclusão crescente de óleo de linhaça às rações foi efetiva na melhoria do ganho de peso e a conversão alimentar dos frangos de corte, nas fases inicial (1 a 21 dias) e total (1 a 43 dias) de criação.

Os parâmetros de crescimento e qualidade óssea da tíbia e fêmur de frangos de corte foram positivamente influenciados pelo incremento crescente de óleo de linhaça às rações, entretanto, esse efeito não foi verificado para a resistência óssea.

A inclusão de até 6,5% de óleo de linhaça às rações foi benéfica para o crescimento e mineralização dos ossos longos de frangos de corte, embora não tenha influenciado sobre a concentração de PGE_2 na tíbia aos 21 e 42 dias de idade.

A incorporação dos ácidos graxos de cadeia longa ômega 3 nos ossos dos frangos de corte foi potencializada com rações que contém 4,0% de óleo de linhaça, no período de 1 a 42 dias de idade.