UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL – PPGCA
DOUTORADO EM CIÊNCIA ANIMAL

TIAGO DA SILVA TEÓFILO

CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS RUMINAIS, ALTERAÇÕES HEPÁTICAS E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES TEORES DE ÓLEO RESIDUAL DE FRITURA

MOSSORÓ
2020

TIAGO DA SILVA TEÓFILO

CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS RUMINAIS, ALTERAÇÕES HEPÁTICAS E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES TEORES DE ÓLEO RESIDUAL DE FRITURA

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de Concentração: Morfofisiologia e Biotecnologia Animal

Orientador: José Domingues Fontenele Neto, Prof. Dr.

Co-orientadora: Patrícia de Oliveira Lima, Profa. Dra.

MOSSORÓ

2020

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência (SIR)

T314c Teófilo, Tiago da Silva.
CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS RUMINAIS, ALTERAÇÕES HEPÁTICAS E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES TEORES DE ÓLEO RESIDUAL DE FRITURA / Tiago da Silva Teófilo. - 2020.
71 f. : il.

Orientador: José Domingues Fontenele Neto.
Coorientadora: Patrícia de Oliveira Lima.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2020.

1. Lipídios. 2. Nutrição de ruminantes. 3. Alterações patológicas. 4. Alimentos alternativos. I. Fontenele Neto, José Domingues , orient. II. Lima, Patrícia de Oliveira , co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC´s) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

TIAGO DA SILVA TEÓFILO

CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS RUMINAIS, ALTERAÇÕES HEPÁTICAS E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES TEORES DE ÓLEO RESIDUAL DE FRITURA

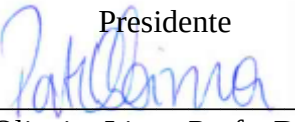
Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de Concentração: Morfofisiologia e Biotecnologia Animal

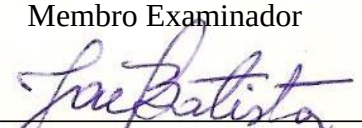
Defesa em: 20 / 02 / 2020.

BANCA EXAMINADORA

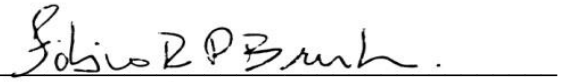
José Domingues Fontenele Neto, Prof. Dr. (UFERSA)
Presidente



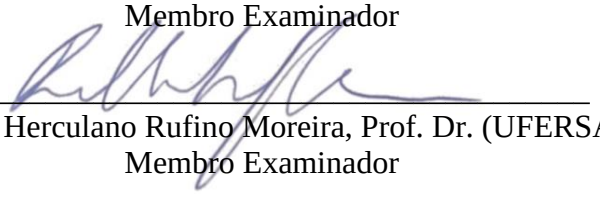
Patrícia de Oliveira Lima, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro Examinador



Jael Soares Batista, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador



Fábio Raphael Pascoti Bruhn, Prof. Dr. (UFPel)
Membro Examinador



Rennan Herculano Rufino Moreira, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

A Deus, por tudo que me ofertado!

Aos meus pais, familiares e amigos, por todo incentivo e ajuda!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, por ter me dado o dom da vida, por toda proteção e estar sempre ao meu lado.

A todos os meus familiares, por todo apoio e incentivo. Aos meus pais, José e Etelvina, por tudo que fizeram por mim até hoje, serei eternamente grato.

Aos meus irmãos, Taliane, Tennison, Tayza e Tony, com quais pude crescer e aprender. Aos meus sobrinhos Luís Miguel, Marcela e Ana Júlia, pelos momentos de alegria.

Ao povo brasileiro, que arduamente luta e contribui de diferentes formas para a universalização do conhecimento e manutenção de Instituições Públicas de Ensino.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de realização do curso.

Ao professor Dr. José Domingues Fontenele Neto, por ter aceitado me orientar e pela confiança em mim depositada.

A professora Dra. Patrícia de Oliveira Lima, pela orientação, ensinamentos e amizade ao longo do doutorado.

Aos professores Dr. Jael Soares Batista, Dr. Fábio Raphael Pascoti Bruhn e Dr. Rennan Herculano Rufino Moreira pelos ensinamentos, por toda ajuda fornecida e por terem aceitado fazer parte de minha banca examinadora.

Ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, em especial aos Professores Rodrigo Costa e Ana Carla Diogénes Suassuna, pela flexibilização de horário especial para condução do curso e aos meus amigos Sérvulo Eduardo, Graciella Jales, Hévilla Séfora, Alexandre Araújo, Marília Gabriela, Gabrielle Santiago e Janaína Queiroz pelo apoio fornecido sempre.

Aos Professores Dr. Moacir Oliveira e Dr. Diogo Cavalcanti, por toda ajuda fornecida e amizade.

A todos do curso de Medicina (não vou citar nomes, para não correr o risco de esquecer algum), pela compreensão durante os períodos de ausência e pelo valioso incentivo.

Ao Prof. Dr. Jorge Vinícus Fernandes Lima Cavalcanti, da Universidade Federal de Pernambuco, por toda colaboração nas análises cromatográficas e pela valorosa recepção.

Ao Núcleo de Estudos “PETRUS”, em especial Jéssica Taiomara Oliveira, pelo uso dos animais.

Aos amigos do PPGCA e que espero levar para a vida inteira em especial aos Doutores Maria Vivianne Miranda, Raony Morais, Maurina Porto, Janine Braz e Luã Macedo, por toda ajuda fornecida, pelo companheirismo e pela grande amizade. A minha amiga e futura Dra.Tatiane Severo, pela amizade e toda ajuda fornecida.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, para a concretização desse sonho e pela simples convivência que por descuido não tenham sido citados, mas que, contribuíram de diferentes formas para eu chegar até aqui, devo externar o meu sincero e grande...

MUITO OBRIGADO!

"Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim."

Chico Xavier

RESUMO

O uso de produtos alternativos na alimentação de ruminantes pode apresentar características benéficas, tanto do ponto de vista econômico, quanto ambiental. A suplementação de ovinos com óleo residual de fritura (ORF), como estratégia de aumentar o aporte energético dietético pode modular as características da morfofisiologia ruminal, bem como do metabolismo hepático e da carne desses animais. Com isso, objetivou-se avaliar as características morfofisiológicas do rúmen, bem como as eventuais alterações hepáticas e o perfil de ácidos graxos da carne de ovinos em terminação alimentados com diferentes níveis de ORF. Para isso, 24 ovinos, machos, sem padrão racial definidos, foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (seis carneiros por tratamento). Os animais foram mantidos a pasto do nascimento até 120 dias e logo após confinados por 60 dias, onde foram submetidos a uma das dietas experimentais, que consistiram em diferentes níveis de inclusão do ORF à dieta (0, 3, 6 e 9%) com base na matéria seca. A suplementação com ORF não influenciou na espessura do epitélio, bem como no índice mitótico. No entanto, animais suplementados com 9% do ORF apresentaram um tamanho de papilas reduzido. O incremento dietético do ORF (6 e 9%) proporcionou um aumentou nos tempos de redução do azul de metileno, sedimentação e flotação no fluido ruminal. O acréscimo da suplementação com ORF promoveu um aumento das lesões hepáticas microscopicamente, acompanhado de uma redução da deposição de glicogênio no parênquima hepático. A carne dos animais alimentados com 9% de inclusão do óleo apresentou valores menores do ácido oleico (C18:1), quando comparados com o grupo controle. Os animais do grupo controle, apresentaram um menor valor do ácido α-linolênico (C18:3), quando comparados com os demais grupos. Não foram observadas diferenças nos índices trombogênico e aterogênico. A inclusão de óleo residual de fritura em níveis elevados pode gerar alterações nos padrões de fermentação, bem como na mucosa ruminal e no parênquima hepático, não refletindo no entanto em mudanças substanciais no perfil de ácidos graxos da carne dos animais, constituindo uma alternativa para o aproveitamento desse resíduo da indústria alimentar, desde que respeitados os limites de inclusão.

Palavras-chave: Lipídios. Nutrição de ruminantes. Alterações patológicas. Alimentos alternativos.

ABSTRACT

The use of alternative products in the feeding of ruminants can have beneficial characteristics, both from an economic and environmental point of view. Supplementation of sheep with residual frying oil (RFO), as a strategy to increase the dietary energy supply can modulate the characteristics of ruminal morphophysiology, as well as of the hepatic metabolism and meat of such animals. Thus, the objective was to evaluate the morphophysiological characteristics of the rumen, as well as possible hepatic changes and the fatty acid profile of the meat of finishing sheep fed with different levels of RFO. For this, 24 male sheep, with no defined racial pattern, were distributed in a completely randomized design with four treatments (six rams per treatment). The rams were kept on pasture from birth up to 120 days and then confined for 60 days, where they were submitted to one of the experimental diets, which consisted of different levels of inclusion of RFO in the diet (0, 3, 6 and 9%) with based on dry matter. RFO supplementation did not influence int the thickness of the epithelium and in the mitotic index. However, rams supplemented with 9% of RFO had a reduced papillae size. The dietary increment of the RFO (6 and 9%) provided an increase in the times of reduction of the methylene blue, sedimentation and flotation in the ruminal fluid. The addition of RFO supplementation promoted an increase in microscopic hepatic lesions, accompanied by a reduction in glycogen deposition in the hepatic parenchyma. The meat of rams fed with 9% oil inclusion showed lower values of oleic acid (C18:1), when compared with the control group. The rams in the control group showed a lower value of α-linolenic acid (C18:3), when compared with the other groups. There were no differences in thrombogenic and atherogenic indices. The inclusion of residual frying oil at high levels can generate changes in the fermentation patterns, as well as in the ruminal mucosa and hepatic parenchyma, however, not reflecting in substantial changes in the fatty acid profile of the meat of the rams, constituting an alternative for the use of this residue from the food industry, as long as the inclusion limits are respected.

Keywords: Lipids. Ruminant Nutrition. Pathological changes. Alternative foods.

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	**11**
2	**OBJETIVOS**	**13**
2.1	Geral	**13**
2.2	Específicos	**13**
3	**REVISÃO DE LITERATURA**	**14**
3.1	Proliferação e morte celular no ruminorretículo	**14**
3.2	Dieta e perfil de ácidos graxos na musculatura	**17**
	REFERÊNCIAS	**21**
4	**CAPÍTULO 1**	**28**
	Morfofisiologia do rúmen e alterações hepáticas de ovinos alimentados com diferentes níveis de óleo residual de fritura	**29**
5	**CAPÍTULO 2**	**55**
	Perfil de ácidos graxos da carne de ovinos alimentados com óleo residual de fritura	**56**

1. INTRODUÇÃO

A busca por alimentos, alternativos às dietas tradicionais, é fator fundamental para a viabilidade econômica da produção de animais confinados, bem como por questões ambientais. A terminação de animais em confinamento foi utilizada, por muito tempo, com o intuito de aumentar a lucratividade da pecuária de corte mediante a oferta de animais terminados no período de entressafra. Nos últimos anos, os custos oriundos desta prática elevaram-se acentuadamente. Dentre estes alimentos, pode-se incluir o uso de subprodutos da indústria alimentícia e bioenergética, como o óleo residual de fritura. Entretanto é necessário conhecer a influência destes produtos sob o metabolismo animal.

A mucosa ruminal é capaz de responder diferentemente de acordo com o padrão alimentar ao qual os animais são submetidos. A mudança da taxa de divisão celular é uma das principais características de adaptação do epitélio ruminal. Isso pelo fato de que certos componentes da dieta apresentam apreciável influência sobre essa taxa.

Alterações progressivas e regressivas da mucosa ruminal podem ocorrer em função da quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis na dieta, em função dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que surgem a partir deles, entre outras. O aumento da superfície absortiva do ruminorretículo pode ser induzido pela manipulação da dieta, permitindo maior absorção de nutrientes e melhorando o desempenho do animal.

Os diferentes componentes dietéticos podem modificar a população microbiana dos ruminantes e, consequentemente, as reações que ocorrem no rúmen, bem como em outros sítios do sistema digestivo destes animais, refletindo inclusive na qualidade da carcaça.

Com isso, este trabalho foi conduzido objetivando avaliar possíveis modificações na morfofisiologia ruminal, bem como sobre o metabolismo hepático e o perfil de ácidos graxos na carne de ovinos submetidos a diferentes níveis de óleo residual de fritura na alimentação.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Descrever a influência da inclusão de óleo residual de fritura na dieta de ovinos na morfofisiologia ruminal, bem como sobre o metabolismo hepático e o perfil de ácidos graxos na carne.

2.2 ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da inclusão do óleo residual de fritura sobre a morfometria da mucosa ruminal e sobre o parênquima hepático através de microscopia de luz;

Verificar o efeito do incremento de óleo sobre o fluido ruminal;

Avaliar o efeito da dieta sob o perfil de ácidos graxos na carne de ovinos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 PROLIFERAÇÃO E MORTE CELULAR NO RUMINORRETÍCULO

No epitélio da mucosa ruminal a proliferação celular ocorre a partir da camada basal, onde as células entram em divisão mitótica. Essas, por sua vez, sofrem diferenciação e migram para as camadas superiores do epitélio até alcançar a camada córnea e descamar para dentro do lúmen ruminal (BANKS, 1992; DELLMAN e EURELL, 1998).

O epitélio ruminal é naturalmente paraqueratótico (LAVKER et al., 1969; LAVKER e MATOLTSY, 1970). No entanto, maior prevalência de paraqueratose ruminal é associada a dietas com alto teor de alimentos concentrados (TAMATE e KIKUCHI, 1978), provavelmente resultante da indução de alta taxa de proliferação e migração celular sem tempo suficiente para completa diferenciação (GOODLAD, 1981).

O epitélio ruminal durante a transição de pré-ruminate para o estado de ruminante sofre uma reconstrução funcional, devido a mudanças na dieta de alimentos líquidos para sólidos. O epitélio ruminal em pré-ruminantes passa por processos de maturação associado ao alargamento da área de superfície para absorção de nutrientes e desenvolvimento da capacidade celular para absorção e metabolismo de AGCC gerados pela digestão de nutrientes sólidos, através da ação de microorganismos anaeróbicos no rúmen (NIWIŃSKA et al., 2017).

Os AGCC são estimuladores de proliferação celular do epitélio ruminal (SAKATA e TAMATE, 1978, 1979). O efeito direto no epitélio varia conforme o tipo de AGCC (GÁLFI et al., 1986) e ao menos um mediador, a insulina (SAKATA et al., 1980; RESENDE JÚNIOR et al., 2006b), está envolvida no processo de estimulação da proliferação celular. Como existe um efeito estimulador direto dos AGCC na proliferação celular, as papilas ruminais são mais desenvolvidas onde a fase fluida permanece mais tempo em contato com a parede, uma vez que esses ácidos se encontram incorporados ao líquido ruminal. Devido a este, e provavelmente também a outros fatores, o tamanho e a forma das papilas ruminais variam de acordo com a região do rúmen (BEHARKA et al., 1998; DANIEL et al., 2006).

A resposta morfológica das papilas às variações da dieta também é diferente conforme a região. As papilas localizadas no saco cranial do rúmen são as que menos respondem às variações dietéticas em bovinos (McGAVIN e MORRIL, 1976; BEHARKA et al., 1998). Alguns experimentos não foram capazes de detectar resposta papilar às variações nutricionais sutis (ANDERSEN et al., 1999; REYNOLDS, 2004), provavelmente por terem utilizado papilas oriundas do saco cranial do rúmen. Entretanto, Resende Júnior et al. (2006b), mesmo trabalhando com papilas oriundas do saco cranial, conseguiram encontrar diferença no índice mitótico da camada basal do epitélio, que foi mais alto em papilas de vacas alimentadas com concentrado uma vez ao dia, do que em papilas de vacas alimentadas com concentrado quatro vezes ao dia, uma vez que ocorre maior resposta da mucosa ruminal a picos na concentração de AGCC. No mesmo experimento, os autores puderam também detectar que, na transição de uma dieta de padronização, baseada em feno, para uma dieta com concentrado e feno, as papilas ruminais tenderam a crescer rapidamente atingindo o seu tamanho máximo, 12 dias após a introdução do concentrado.

A extensão da superfície absortiva do omaso tem importância na absorção de AGCC, podendo evitar que esses passem com a fase fluida para o abomaso. O excesso de AGCC absorvido no abomaso é correlacionado com a diminuição da motilidade do órgão, a qual é precursora de distúrbios digestivos, como deslocamento e torção (BOLTON et al., 1976; SVENDSEN, 1969).

Se a presença de AGCC estimula a proliferação epitelial, sua ausência ou menor quantidade pode levar à involução do epitélio (SAKATA et al., 1974). Jejum de dois dias teve efeito agudo na diminuição do tamanho papilar e índice mitótico e no aumento do índice apoptótico em papilas coletadas no saco cranial do rúmen de vacas (RESENDE JÚNIOR et al., 2006a).

A apoptose, que é a morte celular programada, ocorre quando as células não são mais necessárias ou se tornam uma ameaça para o organismo (GUYTON e HALL, 2006). A ideia de que apoptose é um mecanismo comum para regulação da perda celular, foi bem estabelecida (KERR et al., 1972; RAFF, 1992; HALL et al., 1994). Há uma relação coordenada, mas com frequência inversa, entre crescimento celular e apoptose (COTRAN et al., 2000).

O fenômeno da apoptose é definido por uma série de mudanças morfológicas (KERR et al., 1972). As características clássicas são melhores observadas na microscopia eletrônica, mas podem ser observadas através de microscopia de luz usando corantes ou marcadores que se ligam ao DNA. As mudanças morfológicas observadas no processo de apoptose são condensação celular, presumivelmente pela perda de água (KERR et al., 1972); desprendimento e arredondamento celular; projeções da membrana citoplasmática; condensação da cromatina nuclear (MILLS, 1999; HACKER, 2000) e fragmentação nuclear e celular em corpos apoptóticos. A maioria dessas mudanças é mediada por uma cascata enzimática envolvendo cisteíno-proteases, chamadas caspases,

que clivam resíduos de ácido aspártico (HENGARTNER, 2000). As caspases são proteases do tipo cisteína que desempenham um papel fundamental nas clivagens proteolíticas do processo apoptótico (CHANG e YANG, 2000, GRUTTER, 2000). São conhecidos pelo menos 12 tipos de caspases em mamíferos, classificadas em dois grupos principais: Caspases iniciadoras (1, 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11 e 12) e Caspases efetoras (3, 6 e 7). Após a ativação das caspases efetoras o mecanismo de ativação do processo de apoptose torna-se irreversível (LI e YUAN, 2008).

3.2 DIETA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

A concentração de lipídios nas dietas de ruminantes é baixa, de 1 a 5% da matéria-seca e estão presentes principalmente na forma de ésteres de glicerol (KOZLOSKI, 2009). Como alternativa ao déficit de energia das rações tem-se adotado a suplementação com lipídios, que além de proporcionar o aumento da energia, melhora a eficiência alimentar, o desempenho animal e consequentemente incrementa as produções de carne e leite (VALINOTE et al., 2005).

O uso de lipídeos tem sido recomendado para aumentar a densidade energética da dieta, evitando os efeitos nocivos de altas quantidades de concentrados ricos em amido sobre o ambiente ruminal. A hidrólise de 1g de lipídeo fornece 9,3 kcal de energia bruta, representando 2,25 vezes a energia fornecida pelos carboidratos e proteínas (DOREAU e CHILLIARD, 1997).

Os ácidos graxos insaturados de cadeia longa reduzem a digestibilidade da fibra e a relação acetato:propionato, inibem a produção de metano e alteram a resistência das bactérias ruminais aos ionóforos (VARGAS et al., 2001). Experimentos *in vitro*

demonstraram aumento na eficiência de síntese protéica microbiana e redução na concentração de amônia ruminal em animais recebendo óleo na dieta (VAN NEVEL e DEMEYER, 1988). Leaflet (1996) relatou tendência de melhora na conversão alimentar proporcionada pela utilização de lipídeos em dietas contendo farelo de soja, e não ureia como fonte de nitrogênio, efeito atribuído à habilidade destes em inibir as bactérias utilizadoras de aminoácidos como fonte de energia e nitrogênio, efeito semelhante ao relatado para o ionóforo monensina (KRAUSE e RUSSELL, 1996).

A suplementação com lipídeos apresentou resultados positivos sobre o ganho de peso diário e eficiência alimentar em diversos trabalhos (ZINN, 1989; BRANDT Jr. e ANDERSON, 1990; BOCK et al., 1991), o que pode ser explicado pelo maior valor energético normalmente encontrado nas dietas, tendo em vista que é difícil produzir rações isoenergéticas com a inclusão de fontes de lipídeos às dietas.

A utilização de fontes lipídicas na alimentação de bovinos de corte, como o caroço de algodão e outras oleaginosas, ocorre com o intuito de oferecer alta densidade energética, viabilizando maiores taxas de ganho de peso e melhor acabamento de carcaça, principalmente quando se trata da terminação de animais mais precoces. Entretanto, os resultados sobre o desempenho de animais alimentados com oleaginosas são contraditórios (BRANDT Jr. e ANDERSON, 1990).

Ao trabalharem com novilhos em confinamento, Aferri et al. (2005) também não encontraram efeito da adição do caroço de algodão sobre o ganho de peso, conversão alimentar e características de carcaça.

Três experimentos foram conduzidos por Cranston et al. (2006), utilizando o caroço de algodão na terminação de bovinos de corte. Segundo os autores, o caroço de algodão ou os subprodutos de seu processamento podem ser utilizados na dieta de

bovinos em terminação sem efeitos adversos no desempenho dos animais e características de carcaças. Todavia, os efeitos positivos sobre o desempenho dos animais não puderam ser comprovado. Pelo contrário, em um experimento o caroço de algodão chegou a reduzir a eficiência alimentar dos animais.

A qualidade e a quantidade de gordura depositada na carne dos animais sofrem influência de fatores como espécie, raça, idade, estado nutricional, sexo e dieta. No gado, a deposição de gordura é resultado de nutrição, sexo, idade, grupo genético e bioidrogenação ruminal. Observou-se que os bovinos *Bos Taurus* exibem mais marmoreio comparado ao gado *Bos indicus* (ELZO et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2017).

Lopes et al. (2014) avaliando o efeito da restrição alimentar e genótipo de caprinos na qualidade da carne, observaram que o genótipo apresentou poucas diferenças no seu perfil de ácidos graxos. No entanto, os animais alimentados *ad libitum* apresentaram um perfil de ácidos graxos mais favorável para a saúde humana, com maiores concentrações de ácido oléico, ácidos graxos insaturados e ácido linoléico conjugado.

Ladeira et al. (2014), trabalhando com touros jovens alimentados com grãos de soja moídos ou gordura protegida no rúmen com ou sem monensina, observaram que o uso de monensina aumentou os ácidos araquidônico e α-linolênico no músculo *Longissimus dorsi* e na gordura subcutânea, respectivamente. A carne dos animais que receberam gordura protegida no rúmen apresentou maior teor de ácido oléico (C18:1). Os conteúdos de ácido linoleico conjugado (CLA) e linolênico (C18:3) foram maiores no músculo *Longissimus dorsi* dos animais alimentados com grão de soja. Contudo, α-C18:3 foi maior no músculo *Longissimus dorsi* de animais alimentados com gordura protegida no rúmen. Na gordura subcutânea, grãos de soja moídos reduziu os conteúdos

C12:0 e C14:0 e aumentou C18:0. A inclusão de gordura protegida no rúmen aumentou os índices C18:1 e CLA na gordura subcutânea. Soja elevou os conteúdos de AGPI e aumentou a suscetibilidade da gordura muscular e subcutânea à oxidação lipídica.

O ácido linoleico é derivado inteiramente da dieta. Nos ruminantes, este ácido graxo, que está em níveis elevados em alimentos concentrados (grãos e oleaginosas), é degradado em ácidos graxos monoinsaturados e saturados no rúmen por bio-hidrogenação microbiana e apenas uma pequena proporção, cerca de 10% da dieta 18: 2n-6, está disponível para incorporação em lipídios teciduais. Tanto em ovinos como em bovinos, o ácido graxo está em níveis mais elevados do músculo do que o tecido adiposo. O segundo AGPI mais importante é o ácido α-linolênico (18: 3n-3), que está presente em muitos alimentos concentrados, mas em níveis inferiores a 18: 2n-6. Este é um importante ácido graxo dietético para ruminantes, uma vez que constitui mais de 50% dos ácidos graxos totais em gramíneas. Novamente, uma alta proporção é bio-hidrogenada para ácidos graxos saturados no rúmen (WOOD et al., 2008).

Não somente sobre o aspecto de saúde humana, o perfil de ácidos graxos (AG) também é importante do ponto de vista comercial, já que vários estudos têm demonstrado que a proporção de AG saturados, AG monoinsaturados e AG poliinsaturados influenciam o período de validade, assim como o sabor da carne (DUCKETT et al., 1993; ELMORE et al., 1999). Isto ocorre porque carnes com altas concentrações de AGPI podem sofrer rancificação. Para que esta reação química não ocorra, é necessária que a quantidade de Vitamina E (α-tocoferol) presente na carne seja adequada o que, por sua vez, está em função dos níveis dessa vitamina nos ingredientes da dieta. Portanto, a partir da década de 90 houve grande interesse sobre a adição dessa vitamina nas dietas com o intuito de melhorar a qualidade da carne de bovinos.

REFERÊNCIAS

AFERRI, G.; LEME, P.R.; SILVA, S.L.; PUTRINO, S.M.; PEREIRA, A.S.C. Desempenho e características de carcaça de novilhos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 34, n. 5, p. 1651 – 1658, 2005.

ANDERSEN, J. B.; SEHASTED, J.; INVARTSEN, K. L. Effect of dry cow feeding strategy on rumen pH, concentration of volatile fatty acids and rumen epithelium development. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 49, n. 3, p. 149-155, 1999.

BANKS, W. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. 629 p.

BEHARKA, A. A.; NAGARAJA, T. G.; MORRILL, J. L.; KENNEDY, G. A.; KLEMM, R. D. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 7, p. 1946-1955, July 1998.

BOCK, B. J. HARMON, D. L.; BRANDT, R. T.; SCHNEIDER, J. E. Fat source and calcium level effects on finishing steer performance, digestion, and metabolism. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 5, p. 2211-2224, 1991.

BOLTON, J. R.; MERRITT, A. M.; CARLSON, G. M.; DONAWICK, W. J. Normal abomasal electromyography and emptying in sheep and the effects of intraabomasal volatile fatty acid infusion. **American Veterinary Research**, v. 37, n. 12, p. 1387-1388, 1976.

BRANDT, R. T.; ANDERSON, S. J. Supplemental fat source affects feedlot performance and carcass traits of finishing yearling steers and estimated diet net energy value. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 2208–2216, 1990.

CHANG, H. Y.; YANG, X. Proteases for cell suicide: functions and regulation of caspases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, p. 821-846. 2000.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins:** Patologia estrutural e funcional. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

CRANSTON, J. J.; RIVERA, J. D.; GALYEAN, M. L.; BRASHEARS, M. M.; BROOKS, J. C.; MARKHAM, C. E.; ... KREHBIEL, C. R. Effects of feeding whole cottonseed and cottonseed products on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 8, p.2186-2199, 2006.

DANIEL, J. L. P.; RESENDE JÚNIOR, J. C.; CRUZ, F. J. Participação do ruminoretículo e omaso na superfície absortiva total do proventrículo de bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 5, p. 688-694, 2006.

DOREAU, M.; CHILLIARD Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v. 78, Suppl. 1, p.S15-S35, 1997.

DUCKETT, S. K.; WAGNER, D. G.; YATES, L. D.; DOLEZAL, H. G.; MAY, S. G. Effects of time on feed on beef nutrient composition. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 2079–2088, 1993.

ELMORE, J. S.; MOTTRAM, D. S.; ENSER, M.; WOOD, J. D. Effect of the polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile of aroma volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1619–1625, 1999.

ELZO, M. A.; JOHNSON, D. D.; WASDIN, J. G.; DRIVER, J. D. Carcass and meat palatability breed differences and heterosis effects in an Angus–Brahman multibreed population. **Meat science**, v. 90, n. 1, p. 87-92, 2012.

GÁLFI, P.; NEOGRADY, S.; SAKATA, T. Effects of volatile fatty acids on the epithelial cell proliferation of the digestive tract and its hormonal mediation. **In: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. Academic Press, 1991. p. 49-59.

GOODLAD, R. A some effects of diet on the mitotic index and the cell cycle of the ruminal epithelium of sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, v. 66, n. 4, p. 487-499, 1981.

GRÜTTER, M. G. Caspases: key players in programmed cell death. **Current opinion in structural biology**, v. 10, n. 6, p. 649-655, 2000.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 1115 p.

HACKER, J. The morphology of apoptosis. **Cell Tissue Research**, v. 301, p.5-17, 2000.

HALL, P. A.; COATES, P. J.; ANSARI, B.; HOPWOOD, D. Regulation of cell number in the mammalian gastrointestinal tract: the importance of apoptosis. **Journal of Cell Science**, v. 107, p. 3569-3577, 1994.

HENGARTNER, M. O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, v.407, p.770-776, 2000.

KERR, J. F. R.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **British Journal of Cancer**, v. 26, p. 239-257, 1972.

KOZLOSKI G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2. ed. Ed. da UFSM, Santa Maria, 2009. 216p.

KRAUSE, D. O.; RUSSELL, J. B. An rRNA approach for assessing the role of obligate amino acid-fermenting acteria in ruminal amino acid deamination. **Applied and Environmental Microbiology**, v.62, n.3, p.815-821, 1996.

LADEIRA, M. M.; SANTAROSA, L. C.; CHIZZOTTI, M. L.; RAMOS, E. M.; MACHADO NETO, O. R.; OLIVEIRA, D. M.; CARVALHO, J. R. R.; LOPES, L. S.; RIBEIRO, J. S. Fatty acid profile, color and lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. **Meat science,** v. 96, n. 1, p. 597-605, 2014.

LAVKER, R. M.; CHALUPA, W.; DICKEY, J. F. An electron microscopic investigation of rumen mucosa. **Journal of Ultrasctructure Research**, v. 28, n. 1/2, p. 1-12, 1969.

LAVKER, R. M.; MALTOLTSY, A. G. The fate of cell organelles and differentiation products in ruminal epithelium. **Journal Cell Biology**, v. 44, p. 501-505, 1970.

LI, J.; YUAN, J. Caspases in apoptosis and beyond. **Oncogene**, v. 27, p. 6194-6206, 2008.

LOPES, L. S.; MARTINS, S. R.; CHIZZOTTI, M. L.; BUSATO, K. C.; OLIVEIRA, I. M.; MACHADO NETO, O. R.; PAULINO, P. V. R.; LANNA, D. P. D.; LADEIRA, M. M. Meat quality and fatty acid profile of Brazilian goats subjected to different nutritional treatments. **Meat science**, v. 97, n. 4, p. 602-608, 2014.

MCGAVIN, M. D.; MORRIL, J. L. Scanning electron microscopy of ruminal papillae in calves fed various amounts and forms of roughage. **American Journal of Veterinary Research**, v. 37, n. 5, p. 497-508, 1976.

MILLS, J. C.; STONE, N. L.; PITTMAN, R. N. Extranuclear apoptosis: the role of the cytoplasm in the execution phase. **Journal of Cell Biology**, v.146, p.703-707, 1999.

NIWIŃSKA, B.; HANCZAKOWSKA, E.; ARCISZEWSKI, M. B.; KLEBANIUK, R. Exogenous butyrate: implications for the functional development of ruminal epithelium and calf performance. **Animal**, v. 11, n. 9, p. 1522-1530, 2017.

RAFF, M. C. Social controls on cells survival and cell death. **Nature**. v. 356, p. 397-400, 1992.

RESENDE JÚNIOR, J. C.; ALONSO, L. S.; PEREIRA, M. N.; ROCA, M. G.; DUBOC, M. V.; OLIVEIRA, E. C.; MELO, L. Q. Effect of the feeding pattern on

rumen wall morphology of cows and sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 4, p. 526-536, 2006a.

RESENDE JÚNIOR, J. C.; PEREIRA, M. N.; BÔER, H.; TAMMINGA, S. Comparison of techniques to determine the clearance of ruminal volatile fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 8, p. 3096-3106, 2006b.

REYNOLDS, C. K.; DURST, B.; LUPOLI, B.; HUMPHRIES, D. J.; BEEVER, D. E. Visceral tissue mass and rumen volume in dairy cows during the transition from late gestation to early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 961-971, 2004.

SAKATA, T.; HIKOSAKA, K.; SHIOMURA, Y.; TAMATE, H. Stimulatory effect of insulin on ruminal epithelium cell mitosis in adult sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 44, n. 3, p. 325-331, 1980.

SAKATA, T.; TAMATE, H. Effect of the intermittent feeding on the mitotic index and the ultrastructure of basal cells of the ruminal epithelium in sheep. **Tohoku Journal of Agricultural Research**, v. 25, n. 3/4, p. 156-163, 1974.

SAKATA, T.; TAMATE, H. Rumen epithelium cell proliferation accelerated by propionate and acetate. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 1, p. 49-52, 1979.

SVENDSEN, P. Etiology and pathogenesis of abomasal displacement in cattle. **Nordisk Veterinaermedicin**, v. 21, n. 1, p. 1-4, 1969. Supplement.

TAMATE, H.; KIKUCHI, T. Electron microscopy study on parakeratotic ruminal epithelium in beef cattle. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 40, n. 1, p. 21-23, 1978.

TEIXEIRA, P. D.; OLIVEIRA, D. M.; CHIZZOTTI, M. L.; CHALFUN-JUNIOR, A.; COELHO, T. C.; GIONBELLI, M.; LADEIRA, M. M. Subspecies and diet affect the expression of genes involved in lipid metabolism and chemical composition of muscle in beef cattle. **Meat science**, v. 133, p. 110-118, 2017.

VALINOTE, A. C.; FILHO, J. C. M. N.; LEME, P. R., SILVA, S. L., CUNHA J. A. Fontes de Lipídeos e Monensina na Alimentação de Novilhos Nelore e sua Relação com a População de Protozoários Ciliados do Rúmen. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1418-1423, 2005.

VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N. (Ed). **The ruminal microbial ecosystem**. Essex, England: Elsevier Science. p. 87-443, 1988.

WOOD, J. D.; ENSER, M.; FISHER, A. V.; NUTE, G. R.; SHEARD, P. R.; RICHARDSON, R. I.; ... WHITTINGTON, F. M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. **Meat science,** v. 78, n. 4, p. 343-358, 2008.

4. CAPÍTULO 1

ARTIGO: Morfofisiologia do rúmen e alterações hepáticas de ovinos alimentados com diferentes níveis de óleo residual de fritura

MORFOFISIOLOGIA DO RÚMEN E ALTERAÇÕES HEPÁTICAS DE OVINOS ALIMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEO RESIDUAL DE FRITURA

MORPHOPHYSIOLOGY OF THE RUMEN AND HEPATIC ALTERATIONS OF SHEEP FED DIFFERENT LEVELS OF RESIDUAL FRYING OIL

Tiago da Silva Teófilo[1]*; Patrícia de Oliveira Lima[1]; Jael Soares Batista[1]; Jéssica Taiomara Moura Costa Bezerra de Oliveira[1]; Maria Viviane Freitas Gomes de Miranda[1]; Mychel Raony Paiva Teixeira Morais[1]; José Domingues Fontenele-Neto[1]

[1]Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), 59.625-900, Mossoró-RN, Brasil

*Autor para correspondência: tiagosteofilo@gmail.com

RESUMO: Objetivou-se avaliar os efeitos da alimentação com diferentes níveis da inclusão de óleo residual de fritura (ORF) na morfofisiologia ruminal e hepática de ovinos em terminação. Para isso, foram utilizados 24 ovinos machos, sem padrão racial definido, distribuídos em um delineamento em blocos casualizados, com quatro tratamentos e seis repetições. Os animais foram mantidos a pasto do nascimento até 120 dias de vida e logo após confinados por 60 dias, onde foram submetidos a uma das dietas experimentais, que consistiram em diferentes níveis de inclusão do ORF à dieta (0, 3, 6 e 9% do óleo, com base na matéria seca). A suplementação alimentar com óleo residual de fritura reduziu o consumo alimentar. Animais alimentados com 9% do óleo ORF apresentaram um aumento nos tempos de redução em azul de metileno, de sedimentação e flotação, bem como uma redução da contagem total de protozoários. A espessura do epitélio ruminal, bem como da camada de queratina e o número de papilas/cm2 não diferiram entre os tratamentos. No entanto, a altura das papilas ruminais reduziu nos animais suplementados com 9%. Neste grupo, ocorreu um maior número de lesões na mucosa ruminal. A suplementação com 6 e 9% do ORF promoveu

um aumento das lesões hepáticas microscopicamente. A suplementação com 9% do óleo provocou ainda uma redução da deposição de glicogênio no parênquima hepático. A inclusão de 3% do ORF não promoveu alterações ruminais, nem hepáticas podendo ser utilizada como fonte lipídica alimentação de ovinos em terminação.

PALAVRAS-CHAVE: lipídio, subproduto, ruminante, morfometria, degeneração, necrose.

ABSTRACT: The objective was to evaluate the effects of feeding at different levels of the inclusion of residual frying oil (RFO) in the ruminal and hepatic morphophysiology of finishing sheep. For this, 24 male sheep were used, with no defined racial pattern, distributed in a randomized block design, with four treatments and six repetitions. The rams were kept on pasture from birth up to 120 days of age and then confined for 60 days, where they were submitted to one of the experimental diets, which consisted of different levels of inclusion of RFO in the diet (0, 3, 6 and 9% based on dry matter). Dietary supplementation with residual frying oil reduces food consumption. Rams fed with 9% of RFO showed an increase in methylene blue reduction, sedimentation and flotation times, as well as a reduction in the total protozoan count. The thickness of the ruminal epithelium, as well as the keratin layer and the number of papillae/cm2 did not differ between treatments. However, the height of the ruminal papillae decreased in animals supplemented with 9%. In this group, there was a greater number of lesions in the ruminal mucosa. Supplementation with 6 and 9% of the RFO promoted an increase in hepatic lesions microscopically. Supplementation with 9% of the oil also caused a reduction in glycogen deposition in the hepatic parenchyma. The inclusion of 3% of the RFO did not promote ruminal or hepatic changes and could be used as a lipid source in the feeding of finishing sheep.

KEYWORDS: lipid, by-product, ruminant, morphometry, degeneration, necrosis.

INTRODUÇÃO

Na produção de ruminantes, os custos de ração podem contribuir com até 70% dos custos totais, portanto, melhorar a eficiência da conversão de ração em leite ou

carne pode ter um impacto significativo na lucratividade de sistema de produção de ruminantes (BACH, 2012).

A busca por alimentos, alternativos às dietas tradicionais, é fator fundamental para a viabilidade econômica da produção de animais confinados, bem como por questões ambientais (COSTA et al., 2019). Dentre os alimentos alternativos, pode-se incluir o uso de subprodutos da indústria alimentícia e bioenergética, como fonte alimentar.

O óleo residual de fritura (ORF) é considerado um resíduo da indústria alimentícia e um potente agente poluidor, sendo referido por alguns estudos como fonte alternativa de suplementação lipídica, que pode contribuir tanto para reduzir custos de produção quanto para modificar a composição tecidual da carcaça, além de contribuir para a redução do impacto ambiental, evitando sua destinação inadequada no ambiente (RODRIGUES FILHO et al., 2013). Diferentes tipos de óleos podem ser usados para fritar alimentos, no entanto, o processo de fritura proporciona modificações nas propriedades físicas e químicas do óleo utilizado, com redução dos ácidos graxos insaturados, aumento de espécies reativas ao oxigênio e do grau de hidrólise (CROSA et al., 2014; LIU et al., 2019).

Pesquisas avaliando o desempenho de ruminantes, alimentados com o ORF demonstram seu potencial de utilização na dieta (AWAWDEH et al., 2009; VAN CLEEF et al., 2016). A adição de lipídeos como fonte de energia na dieta de ruminantes, objetiva uma maior densidade energética, o que pode acarretar um menor consumo de alimentos por mecanismos regulatórios específicos da ingestão ou por limites de metabolização desses compostos (PALMQUIST e MATTOS, 2011). O aumento do conteúdo energético da dieta através da adição de lipídios não apenas aumenta a ingestão de energia, mas também reduz o incremento de calor proveniente da dieta (RENAUDEAU et al., 2012).

A capacidade do rúmen de detectar e responder a flutuações nos níveis nutricionais da dieta é um requisito para a homeostase metabólica em ruminantes (XU et al., 2018). O epitélio ruminal é capaz de responder a mudanças dietéticas (LIMA et al., 2015; TEÓFILO et al., 2009), melhorando, por exemplo a quimiossensibilidade de carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos, através do aumento da expressão de transportadores e de receptores de nutrientes, além de induzir o aumento das papilas (superfície de absorção) (TIAN et al., 2020).

O metabolismo lipídico hepático é uma fonte de energia para o corpo e controla vários estados metabólicos fisiopatologicamente. O excesso de lipídios na dieta pode ultrapassar a capacidade de metabolização e armazenamento nos hepatócitos, que é um dos motivos mais comuns que podem levar à distúrbios hepáticos (HASSAN, 2014).

A extensão dos efeitos que o uso de óleo residual de fritura pode causar no organismo animal quando suplementados com esse produto ainda não são completamente esclarecidas, o que demanda mais estudos, principalmente em órgãos relacionados à digestão e metabolização lipídica. Com isso, objetivou-se avaliar a resposta morfológica da mucosa ruminal, bem como os efeitos no padrão de fermentação do fluido ruminal e no parênquima hepático de ovinos suplementados com diferentes níveis de óleo residual de fritura na dieta, durante o período de terminação.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais, dietas e procedimentos experimentais

Todos os procedimentos experimentais foram analisados e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (Protocolo Nº 23091.009383/2016-31).

Foram utilizados 24 ovinos machos, sem padrões raciais definidos, não castrados, clinicamente saudáveis. Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados, definidos por peso dos animais, com quatro tratamentos e seis repetições. Os animais foram submetidos a um período de adaptação de 14 dias, os quais receberam anti-helmínticos.

Os animais foram mantidos a pasto do nascimento até os 120 dias de vida e logo após confinados, sendo alojados em baias individuais de $3m^2$, providas de comedouro, saleiro e bebedouro por um período de 60 dias, onde foram submetidos a uma das dietas experimentais, que consistiram em diferentes níveis de inclusão do óleo de soja residual de fritura à dieta (0, 3, 6 e 9%) com base na matéria seca (Tabela 1). Na formulação das dietas foram considerados os nutrientes dos alimentos que foram fornecidos, previamente determinados em laboratório, conforme preconizações do *National Research Council* (NRC, 2007), para atender os requerimentos nutricionais dos animai e atender um ganho médio diário de 200g. O fornecimento da alimentação foi realizado,

diariamente (às 8 e às 16 horas), como ração total, *ad libitum*, em quantidade suficiente para obter no mínimo uma sobra de 10% do oferecido.

Foram coletadas amostras diárias dos alimentos fornecidos e das sobras, realizadas amostras compostas e armazenadas em um freezer, e posteriormente foram secadas em estufa ventilada a 55ºC, por 72 horas e moídos em moinho tipo Wiley, com peneira com malha de 1 mm e analisados quanto ao conteúdo em matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina e extrato etéreo (EE), segundo Silva e Queiroz (2002). Os teores de carboidratos totais (CT) foram calculados segundo as equações de Sniffen et al. (1992), em que: CT=100 - (%PB+%EE+%MM), enquanto os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados pela fórmula CNF=CT-FDN. Os valores de NDT foram estimados segundo a tabela brasileira de composição química de alimentos – CQBAL 3.0 (VALADARES FILHO et al., 2010). O consumo voluntário de MS, PB, EE, FDN e FDA foi calculado pela diferença entre a quantidade ofertada e a sobra.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais, com diferentes níveis de inclusão de óleo residual de fritura (0, 3, 6 e 9%), fornecidas a ovinos em terminação.

Ingredientes (%)	Nível do óleo residual de fritura (%)			
	0	3	6	9
Feno de tifton	40,00	38,80	37,50	36,30
Milho	36,20	35,10	34,00	32,90
Farelo de soja	22,00	21,30	20,70	20,00
Óleo de soja residual de fritura	0,00	3,00	6,00	9,00
Mistura mineral	1,80	1,80	1,80	1,80
Nutrientes				
Matéria seca (%)	91,88	90,41	90,71	90,75
Matéria orgânica (%MS)	92,70	93,12	93,28	93,24
Matéria mineral (%MS)	7,30	6,88	6,72	6,76
Proteína bruta (%MS)	21,53	21,24	21,06	19,43
Extrato etéreo (%MS)	2,26	3,57	5,82	7,99
Fibra em detergente neutro (%MS)	36,00	34,63	34,95	35,92
Fibra em detergente ácido (%MS)	13,92	14,04	13,71	13,93
Hemicelulose (%MS)	22,08	20,59	21,24	21,99
Lignina (%MS)	2,74	2,86	2,53	2,75
Celulose (%MS)	12,22	12,63	12,75	12,58
Carboidratos totais (%MS)	68,91	68,31	73,26	65,81
Carboidratos não fibrosos (%MS)	32,91	33,68	38,30	29,89
Nutrientes digestíveis totais (%MS)	79,24	76,86	74,49	72,11

[1]Níveis de garantia (nutrientes/kg): Cálcio (máx.) 300g; Cálcio (mín.) 200g; Fósforo (mín.) 50g; Magnésio (mín.) 16,5g; Sódio (mín.) 40g; Enxofre (mín.) 18g; Selênio (mín.) 11mg; Cobre (mín.) 122mg; Cobalto (mín.) 60mg; Ferro (mín.) 3960mg; Iodo (mín.) 85mg; Manganês (mín.) 2000mg; Zinco (mín.) 2100mg; Vitamina A (mín.) 112000UI; Vitamina D3 (mín.) 22000UI; Vitamina E (mín.) 830 UI; Flúor (máx.) 1000mg.

Após o período de terminação, os ovinos foram submetidos a um jejum sólido de 12 horas e então abatidos. O abate ocorreu em abatedouro sob inspeção municipal, através da insensibilização pelo método de concussão percussiva não penetrativa,

seguido de sangria, com corte da carótida e jugular, em atendimento a legislação vigente (BRASIL, 2000).

Análise do fluido ruminal

Após o abate dos animais, foram coletados 300mL do fluido ruminal para as avaliações física, bioquímica e contagem de protozoários. Na avaliação física foram observados os seguintes parâmetros: cor (verde-oliva, verde-amarelado, verde-enegrecido, marrom ou acinzentado), odor (aromático, ácido ou pútrido), consistência (aquosa, levemente viscosa, viscosa ou espumosa), tempo de sedimentação e flotação. Na análise bioquímica foi avaliado o tempo da prova redução do azul de metileno, com a adição de 1ml do azul de metileno a 0,03% em 20ml do fluido ruminal. A contagem de protozoários foi realizada em lâmina de Neubauer, de acordo com a metodologia proposta por Dehority (1984).

Análises Morfológicas

Macroscópicas

Após a coleta do fluido ruminal, um fragmento de aproximadamente 5 cm² da porção cranial saco ventral (recesso) do rúmen de cada animal foi coletado e posteriormente colocado em frascos contendo solução tampão fosfato, para posterior análise macroscópica (número de papilas por cm² de parede e altura das papilas), segundo metodologia descrita por Daniel et al. (2006).

Microscópicas

Outro fragmento da mesma região do rúmen, bem como um fragmento do fígado foram coletados e fixados em solução de formol tamponado a 4%, por 18 horas, a 4ºC. Em seguida, os fragmentos foram desidratados em soluções crescentes de etanol (70-100%), diafanizadas em xilol, impregnadas e incluídas em parafina líquida, e cortadas em micrótomo rotatório, a 5µm de espessura.

Os cortes do rúmen foram então corados em hematoxilina-eosina, para determinação do índice mitótico, conforme proposto por Sakata e Tamate (1974). A espessura total do epitélio, da camada de queratina e das estruturas não-queratinizadas do epitélio foram determinadas conforme preconizado por Costa et al. (2008). Para determinar a altura, as fotografias foram realizadas no microscópio em objetiva de quatro vezes e para determinar a espessura da camada de queratina e das estruturas não-

queratinizadas do epitélio, a objetiva utilizada foi a de quarenta vezes, em dez campos cada.

Os cortes do fígado foram corados ou em hematoxilina-eosina, para avaliação do parênquima hepático quanto a eventual presença de lesões e, foram determinados escores quanto ao grau das lesões (0-ausente, 1-leve, 2-moderada e 3-acentuada) ou em ácido periódico de Schiff (PAS), para determinação do glicogênio hepático. A determinação do glicogênio foi realizada nas imagens digitalizadas, com auxílio do programa computacional de análises de imagens *Image J* (National Institute of Health, Bethesda, MD, USA; https://imagej.nih.gov/ij/).

Todas as análises microscópicas foram efetuadas com uso de um microscópio de luz, com câmera digital acoplada (Olympus BX51, Olympus Optical®, Japão) e as variáveis morfométricas analisadas pelo programa computacional de análises morfométricas Axio vision (Zeiss®, Alemanha).

Análises Estatísticas

Os dados de consumo, morfológicos e os valores de glicogênio hepático foram submetidos aos testes de normalidade Kolmogorov-smirnov e homocedasticidade das variâncias de Levene. Posteriormente, as variáveis com distribuição normal e igualdade de variância foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida por testes de comparação múltipla de Tukey entre os diferentes grupos de dietas.

As alterações histopatológicas (presença ou ausência) foram comparadas entre os grupos de dietas pelo teste do Qui-quadrado, enquanto os graus das lesões (0 a 4) pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido por pós-testes de Dunn.

Todos as análises estatísticas foram realizadas por meio do Pacote Estatístico para Ciências Sociais – SPSS, para Windows (IBM - SPSS, versão 20.0, Inc., Chicago, IL, EUA). Valores de probabilidade menores que 0,05 foram considerados como significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Consumo e Ganho de Peso

A ingestão de matéria seca diária diferiu entre os tratamentos (Tabela 2), quando avaliados em gramas por dia, sendo o valor superior para o tratamento sem a inclusão

do óleo residual de fritura. A ingestão de extrato etéreo (EE) diferiu significativamente entre todos os tratamentos. Em relação ao consumo de gramas por dia deste nutriente, pode-se observar um crescimento com o aumento nos níveis de inclusão do ORF. O ganho de peso (Tabela 2) foi influenciado pelos níveis de adição do ORF, onde foi observado um menor ganho nos animais suplementados com 9% do ORF.

Peixoto et al. (2017), também avaliando os efeitos do ORF na dieta de ovinos sobre consumo e digestibilidade de alimentos, observaram um efeito linear decrescente sobre o consumo de matéria seca, e um aumento linear na ingestão de EE. Neste trabalho não foram observadas alterações na digestibilidade da maioria dos nutrientes (com exceção do EE), bem como no balanço de nitrogênio e na concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen. No entanto, o desempenho dos animais não foi avaliado.

Tabela 2 – Ingestão de matéria seca e ganho de peso de ovinos alimentados com diferentes níveis de óleo residual de fritura.

Variáveis	**Nível do óleo residual de fritura (%)**				**EPM[1]**	***P*[2]**
	0	**3**	**6**	**9**		
IMS (g)	1150,31^{a}	1071,30^{b}	1081,95^{ab}	1051,75^{b}	18,67	0,011
IEE (g)	26,95^{d}	42,50^{c}	71,35^{b}	95,65^{a}	1,72	<0,001
Peso Inicial	15,29	15,18	15,59	15,90	0,52	0,763
Peso Final	26,68^{ab}	26,97^{ab}	28,22^{a}	25,6^{b}	0,66	0,046
Ganho de Peso	11,39^{a}	11,78^{a}	12,63^{a}	9,36^{b}	0,46	0,001

Médias seguidas por letras diferentes na linha, indicam diferença entre si pelo teste Tukey (P<0,05). IMS = ingestão de matéria seca; IEE = ingestão de extrato etéreo. [1]Erro padrão da média; [2]Valor de probabilidade.

Características do Fluido Ruminal

As características físico-químicas e microbiológicas avaliadas no fluido ruminal estão expressas na Tabela 3. O odor, a consistência e a cor, estavam dentro do padrão de normalidade da espécie.

O tempo de sedimentação e flotação foi maior nos animais alimentados com 9% do óleo. Observa-se que animais alimentados com teor elevado de óleo apresentaram valores acima do preconizado, o que evidencia uma alteração da microbiota ruminal desses animais (FEITOSA et al., 1991).

Os animais suplementados com 9% de ORF também apresentaram um tempo médio de redução do azul de metileno maior que os grupos suplementados com 3 e 6% do óleo (Tabela 3). O tempo considerado adequado nessa prova bioquímica é de até 3 minutos, o que mostra que os animais alimentados com 9% do óleo estavam acima do padrão fisiológico da espécie.

A contagem total de protozoários variou entre todos os grupos de animais suplementados com ORF (Tabela 3). Uma redução na abundância total de protozoários foi observada em ovinos (LIMA et al., 2019), bem como em novilhos (WANG et al., 2018) suplementados com óleo de soja e caprinos com óleo de palma (ABUBAKR et al., 2013).

No ambiente ruminal, os óleos (MACHMULLER e KREUZER, 1999) e alguns ácidos graxos insaturados (NEWBOLD e CHAMBERLAIN, 1988) são tóxicos para os protozoários ciliados. Esse efeito tóxico direto se dá pela incorporação dos ácidos graxos à membrana microbiana, alterando sua fluidicidade e permeabilidade (KOZLOSKI, 2017).

Tabela 3. Características do líquido ruminal de ovinos suplementados com diferentes níveis de óleo residual de fritura no período de terminação.

Variáveis	Suplementação				*P*-valor
	0%	3%	6%	9%	
TSF	3,21 ± 1,22[a]	3,50 ± 1,34[a]	7,44 ± 2,31[b]	12,13 ± 4,63[c]	0,003
RAM (min)	2,67 ± 1,31[a,b]	1,64 ± 1,03[a]	1,79 ± 1,00[a]	5,51 ± 3,7[b]	0,014
Protozoários (x 10^4)	68 ± 2,3[a]	54 ± 3,0[b]	26 ± 2,4[c]	16 ± 2,4[d]	<0,001

TSF: Tempo de sedimentação e flotação; RAM: Redução em azul de metileno. Valores expressos em média ± Erro padrão da média. Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha, indicam diferença entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Aspectos Morfofiológicos do Rúmen

A suplementação com ORF promoveu uma redução na altura das papilas ruminais nos animais alimentados com 9% do ORF, comparada ao grupo controle (Tabela 4).

Tabela 4. Características morfológicas do rúmen de ovinos suplementados com diferentes níveis de óleo residual de fritura no período de terminação.

Variáveis	Suplementação				*P*-valor
	0%	3%	6%	9%	
ETE[1] (µm)	178,42 ± 13,74	183,17 ± 5,67	161,38 ± 7,99	175,04 ± 14,02	0,547
ECQ (µm)	47,33 ± 4,51	45,08 ± 5,63	34,17 ± 2,58	45,25 ± 2,78	0,129
ESQ (µm)	131,08 ± 10,72	138,08 ± 6,13	127,21 ± 7,19	129,79 ± 14,03	0,884
AP (mm)	8,66 ± 0,40[a]	7,57 ± 0,31[ab]	7,43 ± 0,54[ab]	6,62 ± 0,48[b]	0,031
NP/cm^2	35,00 ± 1,71	33,83 ± 1,42	36,00 ± 0,82	34,00 ± 1,41	0,466
IM	0,19 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,223

[1]ETE = Espessura total do epitélio; ECQ = Espessura da camada de queratina; ESQ = Epitélio sem queratina; AP = Altura de papila; NP/cm^2 = Número de papilas ruminais por cm^2 de parede; IM = Índice mitótico. Valores expressos em média ± Erro padrão da

média. Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha, indicam diferença entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O maior determinante da extensão da superfície absortiva ruminal é o tamanho das papilas ruminais (DANIEL et al., 2006; BEHARKA et al., 1998) que pode ser diretamente influenciado pela dieta (SUTTON et al., 1963), uma vez que se sabe que os AGCC, provenientes da fermentação microbiana são estimuladores de proliferação celular do epitélio ruminal (SAKATA e TAMATE, 1978, 1979). O efeito direto no epitélio varia conforme o tipo de AGCC (GÁLFI et al., 1986) e ao menos um mediador, a insulina (SAKATA et al., 1980; RESENDE JÚNIOR et al., 2006b), está envolvido no processo de estimulação da proliferação celular. Por outro lado, se a presença de AGCC estimula a proliferação epitelial, sua ausência ou menor quantidade pode levar à involução do epitélio (SAKATA et al, 1974). Como a adição de lipídios pode reduzir a população de bactérias fibrolíticas ruminais (FRANZOLIN e DEHORITY, 2010), bem como a densidade de protozoários (VÁRADYOVÁ et al., 2007; FERREIRA et al., 2020) e a concentração total de AGCC (WANG et al., 2018). Logo, a adição de 9% de ORF pode ter contribuído para uma redução da produção de AGCC no ambiente ruminal, refletindo em um menor tamanho das papilas ruminais.

A suplementação com ORF nos diferentes níveis, não influenciou no número de papilas por cm^2 da parede, na espessura total do epitélio, bem como na camada de queratina e no índice mitótico (Tabela 4). É curioso notar que o índice mitótico não apresentou diferença entre os tratamentos mesmo tendo ocorrido uma variação na altura das papilas, no entanto, este índice responde agudamente a mudanças no plano alimentar (GOODLAD, 1981; SAKATA e TAMATE, 1978), o que pode justificar valores semelhantes entre as dietas experimentais.

Uma característica observada no rúmen foi a presença de paraqueratose em todos os animais (Figura 1). O epitélio ruminal é naturalmente paraqueratótico (LAVKER et al., 1969; LAVKER e MATOLTSY, 1970). No entanto, maior prevalência de paraqueratose ruminal é associada a dietas com alto teor de alimentos concentrados (TAMATE e KIKUCHI, 1978), provavelmente resultante da indução de alta taxa de proliferação e migração celular sem tempo suficiente para completa diferenciação (GOODLAD, 1981).

O epitélio ruminal apresentou alterações, de acordo com o incremento de óleo na dieta, onde observou-se degeneração hidrópica, formação de grandes vacúolos intracelulares, principalmente na camada espinhosa, bem como a dilatação de vasos linfáticos na lâmina-própria submucosa (Figura 1, P=0,018). Degeneração hidrópica foi observada na mucosa ruminal de bezerros que receberam infusões de lactato (COSTA et al., 2008b).

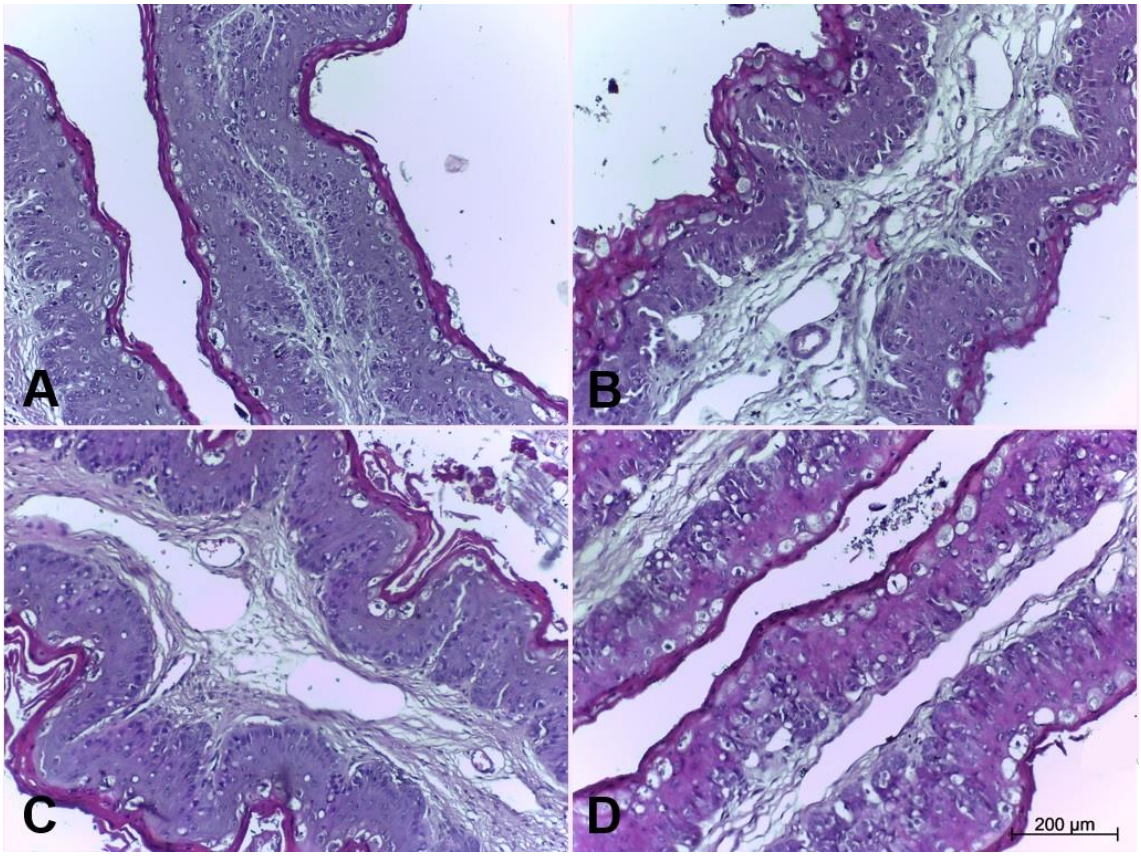


Figura 1. Rúmen de ovinos suplementados com diferentes níveis (**A** – 0%; **B** – 3%, **C** – 6% e **D** - 9%) de óleo residual de fritura. A paraqueratose do epitélio foi observada em todos os animais. Em **A**, mucosa normal; Em **B** e **C** leve vacuolização celular no epitélio e dilatação dos vasos linfáticos na lâmina-própria submucosa; **D** vacuolização celular moderada no epitélio. Coloração: Hematoxilina-eosina. Barra de escala: 200µm.

Alterações Hepáticas

A presença de lesões histológicas no parênquima hepático ocorreu à medida que aumentou a suplementação com o óleo residual de fritura (Tabela 5). Os animais suplementados com 6 e 9% do óleo apresentaram um aumento das lesões hepáticas microscopicamente (p=0,015; Qui-quadrado), bem como do grau das lesões (6%: p=0,016; 9%: p=0,008), quando comparados ao grupo controle. Já os animais

suplementados com 3% do óleo apresentaram um padrão hepático compatível com os animais do grupo controle, ou seja, sem alterações histológicas.

As alterações observadas foram degeneração e necrose dos hepatócitos e inflamação do parênquima hepático. Na degeneração, os hepatócitos apresentavam-se edemaciados, com citoplasma claro, vacuolizados e núcleo deslocado para periferia. Na necrose, os hepatócitos apresentavam núcleo picnótico e citoplasma eosinofílico. Já a inflamação foi caracterizada pela presença de áreas multifocais de infiltrado de células inflamatórias mononucleares perivasculares, composto principalmente por linfócitos e plasmócitos, localizando-se geralmente na região periportal (Figura 2).

A degeneração hepatocelular é uma lesão reversível decorrente de alterações bioquímicas que resultam no acúmulo de substâncias no interior das células, que pode ser líquido, gordura, glicogênio ou proteína. O aporte energético excessivo de óleo na dieta, pode exceder a capacidade de degradação metabólica do fígado, provocando um acúmulo excessivo de lipídios no mesmo (ZACHARY et al., 2018).

Estudos em ratos mostraram que a deposição lipídica no fígado está relacionada ao estresse oxidativo e a peroxidação lipídica aumenta proporcionalmente à gravidade da esteatose hepática (DIEHL, 2005). Burlamaqui et al. (2011) observaram que a esteatose hepática ocorre em maior proporção nos animais recebendo alimentos hipercalóricos e hiperlipídicos do que em animais recebendo uma dieta padrão.

A esteatose hepática pode evoluir para esteato-hepatite, que leva a fibrose e cirrose. Essa progressão pode ser decorrente de danos causados pela peroxidação lipídica e pela produção de espécies reativas ao oxigênio. Para que haja uma excessiva peroxidação lipídica é necessário substrato em abundância, que é o lipídio armazenado como triglicerídeos nos hepatócitos (BRADBURY, 2006).

Citocinas pró-inflamatórias e fatores de transcrição são altamente expressos no tecido adiposo e no fígado. Além da influência de anormalidades no metabolismo lipídico, a inflamação também contribui para a resistência à insulina. O acúmulo de lipídios contribui para a ativação das vias de sinalização da proteína quinase JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) e fator nuclear-kappa B (NF-κB), que consequentemente aumentam a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e interleucina-6 (IL-6) (SHARMA et al., 2013).

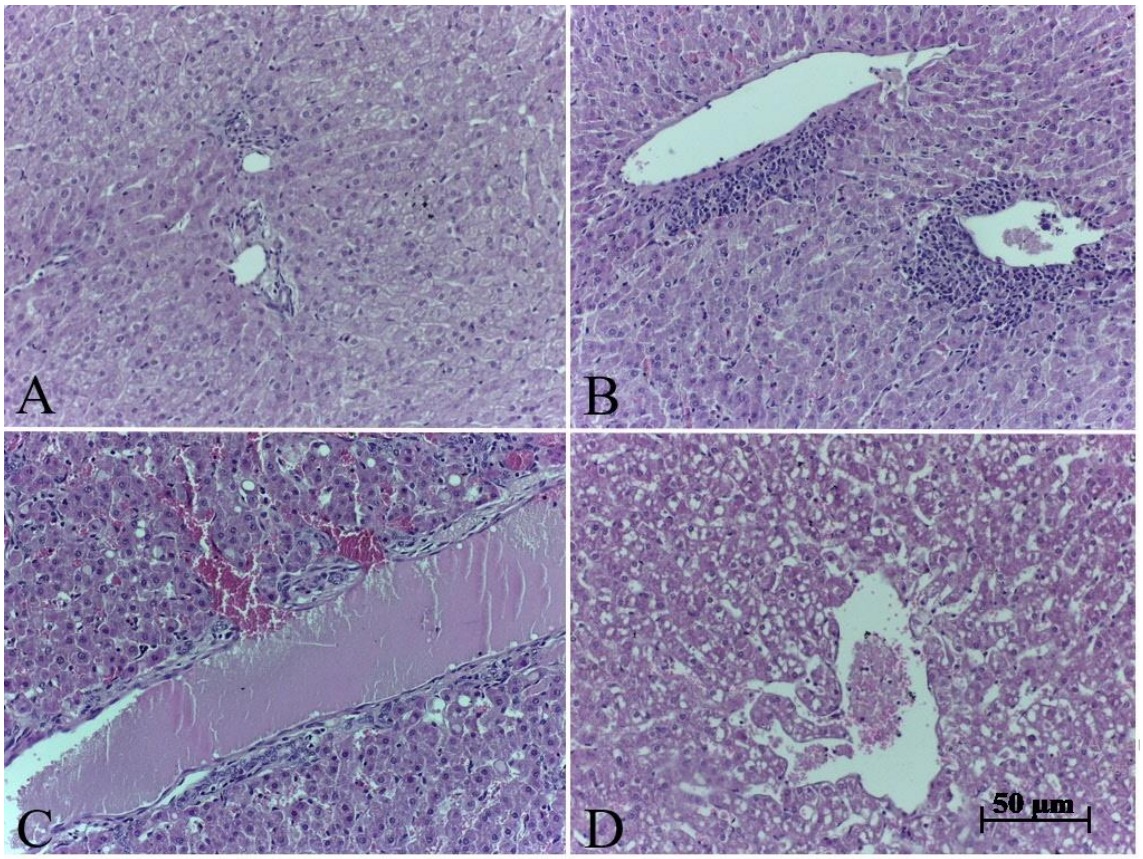


Figura 2. Fígado de ovino recebendo diferentes níveis (**A** – 0%; **B** – 3%, **C** – 6% e **D** - 9%) de óleo residual de fritura na alimentação. Em **A**, parênquima normal; Em **B**, presença de infiltrado inflamatório perivascular; Em **C,** degeneração moderada; Em **D**, degeneração acentuada e presença de necrose. Coloração: Hematoxilina-eosina. Barra de escala: 200µm.

A deposição de glicogênio apresentou um padrão heterogêneo no parênquima e variou entre os grupos (p=0,014). Os animais suplementados com 9% do óleo obtiveram valores inferiores ao grupo controle (p=0,022) e ao grupo suplementado com 3% (p=0,036). Não houve diferença entre o grupo com 6% de adição, com os demais (Figuras 3 e 4).

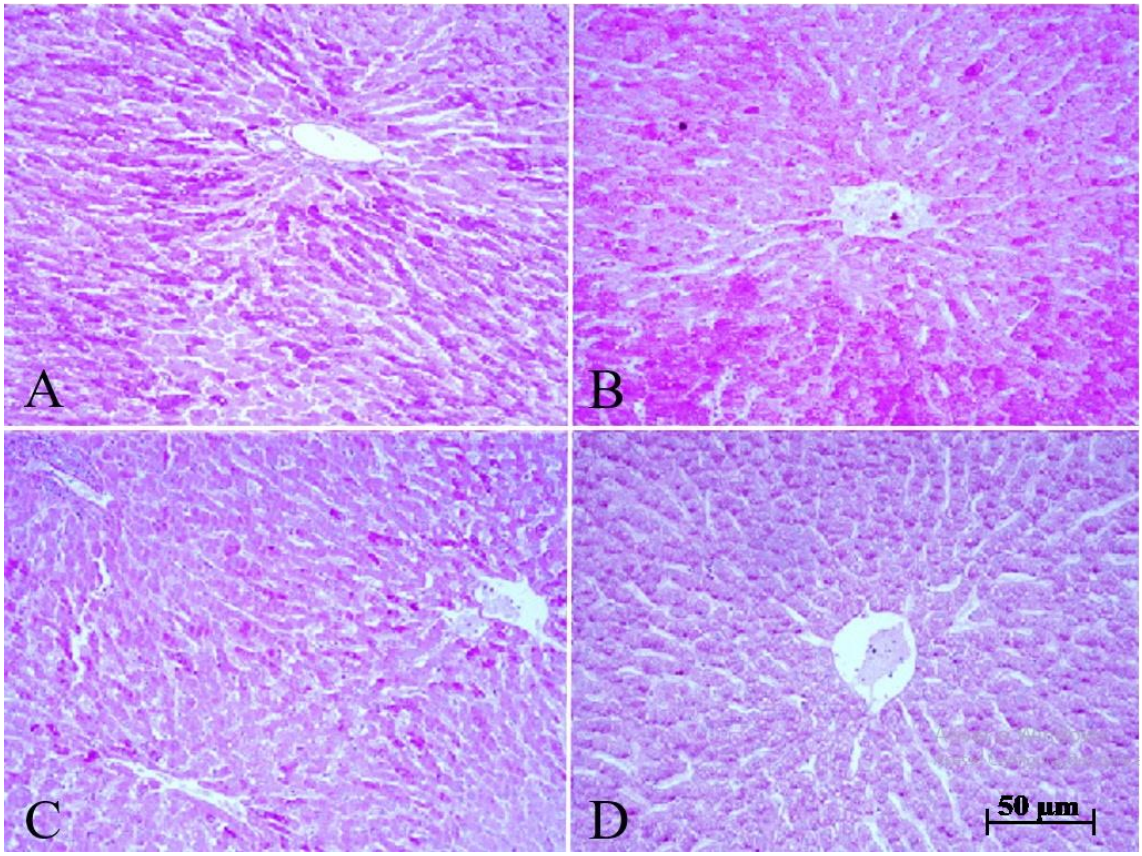


Figura 3. Fígado de ovinos suplementados com diferentes níveis (A – 0%; B – 3%, C – 6% e D - 9%) de óleo residual de fritura. Coloração: ácido periódico de Schiff (PAS). Barra de escala: 200µm.

A redução heterogênea no conteúdo de glicogênio entre o mesmo tipo de células pode indicar uma diferença na liberação geral de glicose. Os hepatócitos próximos aos vasos aferentes são principalmente gliconeogênicos, enquanto os que circundam as vênulas eferentes são principalmente glicolíticos e lipolíticos (JARRAR e TAIB, 2012).

Existem muitos aspectos heterogêneos na função e metabolismo entre diferentes zonas hepáticas. O metabolismo de ácidos graxos e a gliconeogênese são realizados principalmente em hepatócitos periportais. Essa heterogeneidade é refletida na ultraestrutura dos hepatócitos, algumas organelas como mitocôndrias e retículo endoplasmático rugoso são abundantes na zona periportal em contraste à zona centrolobular que mostra uma maior quantidade de retículo endoplasmático liso e peroxissomos (GEBHARDT e MATZ-SOJA, 2014; ELSAYED et al., 2019).

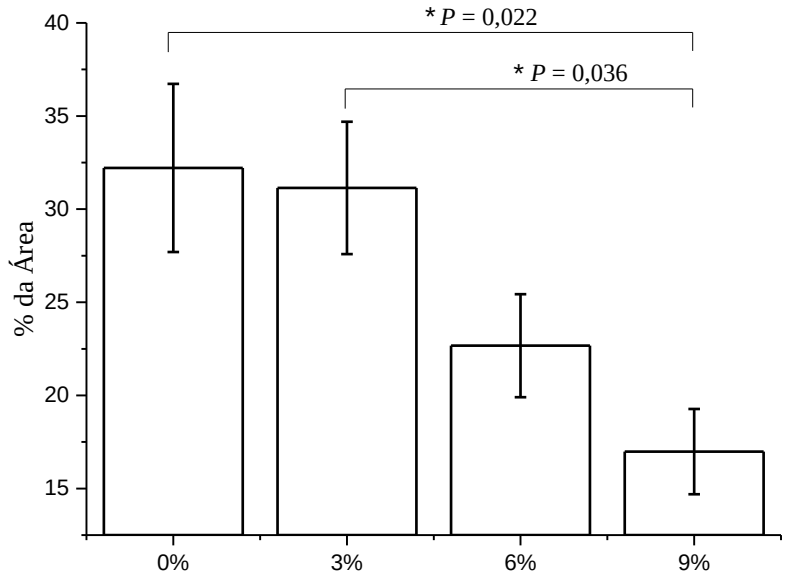


Figura 4. Representação da análise quantitativa da deposição de glicogênio no fígado de ovinos suplementados com diferentes níveis (0, 3, 6 ou 9%) de óleo residual de fritura, através da coloração de ácido periódico de Schiff (PAS). Os valores são expressos em média ± erro padrão por grupo. As barras superiores indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey.

O excesso de lipídios é armazenado como triacilglicerol no fígado e está associado à diminuição do conteúdo de glicogênio no fígado. Em vacas leiteiras, uma rápida diminuição do glicogênio e um aumento do teor de lipídios no fígado são pré-requisitos para a suscetibilidade à cetose (DJOKOVIĆ et al., 2009).

CONCLUSÃO

A suplementação alimentar com óleo residual de fritura reduz o consumo em ovinos em terminação. Nos animais alimentados com 9% do óleo, essa redução do consumo foi acompanhada de um menor ganho de peso nestes animais, uma piora do padrão fermentativo, com maiores tempos de redução de azul de metileno, sedimentação e flotação, bem como um menor tamanho das papilas ruminais.

A inclusão de 6 e 9% do ORF resulta ainda em uma maior incidência de lesões hepáticas, o que consequentemente pode prejudicar o desempenho dos animais.

REFERÊNCIAS

ABUBAKR, A. R.; ALIMON, A. R.; YAAKUB, H.; ABDULLAH, N.; IVAN, M. Digestibility, rumen protozoa, and ruminal fermentation in goats receiving dietary palm oil by-products. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 12, n. 2, p. 147-154, 2013.

AWAWDEH, M. S.; OBEIDAT, B. S.; ABDULLAH, A. Y.; HANANEH, W. M. Effects of yellow grease or soybean oil on performance, nutrient digestibility and carcass characteristics of finishing Awassi lambs. **Animal feed science and technology**, v. 153, n. 3-4, p. 216-227, 2009.

BACH, A. Key indicators for measuring dairy cow performance. In: **Proceedings of the FAO Symposium: Optimization of feed use efficiency in ruminant production systems**. 2012. p. 33-44.

BEHARKA, A. A.; NAGARAJA, T. G.; MORRILL, J. L.; KENNEDY, G. A.; KLEMM, R. D. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 7, p. 1946-1955, 1998.

BRADBURY, M. W. Lipid metabolism and liver inflammation. I. Hepatic fatty acid uptake: possible role in steatosis. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 290, n. 2, p. G194-G198, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa n. 3, de 17 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue**, 2000.

BURLAMAQUI, I.; DORNELAS, C. A.; VALENÇA JR, J. T.; MESQUITA, F. J.; VERAS, L. B.; RODRIGUES, L. V. Hepatic and biochemical repercussions of a polyunsaturated fat-rich hypercaloric and hyperlipidic diet in wistar rats. **Arquivos de gastroenterologia**, v. 48, n. 2, p. 153-158, 2011.

COSTA, S. F.; PEREIRA, M. N.; MELO, L. Q.; RESENDE JÚNIOR, J. C.; CHAVES, M. L. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerros: I Aspectos histológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 1-9, 2008.

COSTA, S. F.; MELO, L. Q.; RESENDE NETO, M.; CARVALHO, J. R. R.; LADEIRA, M. M.; ZANGERONIMO, M. G. Aspectos morfológicos do rúmen, omaso e fígado de tourinhos alimentados com diferentes níveis de glicerina bruta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v. 71, n. 1, p. 340-344, 2019.

COSTA, S. F.; PEREIRA, M. N.; MELO, L. Q.; CALIARI, M. V.; CHAVES, M. L. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e epiderme de bezerros: II. Aspectos ultra-estruturais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 10-18, 2008.

CROSA, M. J.; SKERL, V.; CADENAZZI, M.; OLAZÁBAL, L.; SILVA, R.; SUBURÚ, G.; TORRES, M. Changes produced in oils during vacuum and traditional frying of potato chips. **Food chemistry**, v. 146, p. 603-607, 2014.

DANIEL, J. L. P.; RESENDE-JÚNIOR, J. C.; CRUZ, F. J. Participação do ruminoretículo e omaso na superfície absortiva total do proventrículo de bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 5, p. 688-694, 2006.

DIEHL, A. M. Lessons from animal models of NASH. **Hepatology Research**, v. 33, n. 2, p. 138-144, 2005.

DJOKOVIĆ, R.; ŠAMANC, H.; JOVANOVIĆ, M. Lipid and Glycogen Content of the Liver and Thyroidal Status in Dairy Cows with Hepatic Lipidosis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 4, n. 141, p. 292, 2009.

ELSAYED, H. R. H.; EL NASHAR, E. M.; ABD-ELMONEM, M. M. Is the hepatocyte ultrastructural zonal heterogeneity changed by overnight (16 h) fasting? Morphometric study. **Ultrastructural Pathology**, v. 43, n. 6, p. 290-300, 2019.

FERREIRA, A. V. P.; COMINOTTE, A.; LADEIRA, M. M.; CASAGRANDE, D. R.; TEIXEIRA, P. D.; VAN CLEEF, E.; MACHADO-NETO, O. R. Feedlot diets with soybean oil, selenium and vitamin E alters rumen metabolism and fatty acids content in steers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 260, p. 114362, 2020.

FRANZOLIN, R.; DEHORITY, B. A. The role of pH on the survival of rumen protozoa in steers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 10, p. 2262-2267, 2010.

GALFI, P.; NEOGRADY, S.; KUTAS, F. Dissimilar Ruminal Epithelial Response to Short-Term and Continuous Intraruminal Infusion of Sodium n-Butyrate. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 33, n. 1-10, p. 47-52, 1986.

GEBHARDT, R.; MATZ-SOJA, M. Liver zonation: Novel aspects of its regulation and its impact on homeostasis. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 20, n. 26, p. 8491, 2014.

GOODLAD, R. A. Some effects of diet on the mitotic index and the cell cycle of the ruminal epithelium of sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology: Translation and Integration**, v. 66, n. 4, p. 487-499, 1981.

HASSAN, W.; RONGYIN, G.; DAOUD, A.; DING, L.; WANG, L.; LIU, J.; SHANG, J. Reduced oxidative stress contributes to the lipid lowering effects of isoquercitrin in free fatty acids induced hepatocytes. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2014, 2014.

JARRAR, B. M.; TAIB, N. T. Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity. **Saudi journal of biological sciences**, v. 19, n. 2, p. 203-210, 2012.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciencia-Editora UFSM, 2017.

LAVKER, R. M.; MATOLTSY, A. G. Formation of horny cells: the fate of cell organelles and differentiation products in ruminal epithelium. **The Journal of cell biology**, v. 44, n. 3, p. 501-512, 1970.

LAVKER, R.; CHALUPA, W.; DICKEY, J. F. An electron microscopic investigation of rumen mucosa. **Journal of ultrastructure research**, v. 28, n. 1-2, p. 1-15, 1969.

LIMA, P. R.; APDINI, T.; FREIRE, A. S.; SANTANA, A. S.; MOURA, L. M. L.; NASCIMENTO, J. C. S.; MENEZES, D. R. Dietary supplementation with tannin and soybean oil on intake, digestibility, feeding behavior, ruminal protozoa and methane emission in sheep. **Animal feed science and technology**, v. 249, p. 10-17, 2019.

LIMA, R. F.; RESENDE JÚNIOR, J. C.; COSTA, S. F.; DANIEL, J. L. P.; TEÓFILO, T. S.; CARDOSO, M. G. Morphological response of the ruminal and omasal mucosae to the variation in diet energy. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 39, n. 6, p. 574-582, 2015.

LIU, Y.; LI, J.; CHENG, Y.; LIU, Y. Effect of frying oils' fatty acid profile on quality, free radical and volatiles over deep-frying process: A comparative study using chemometrics. **LWT**, v. 101, p. 331-341, 2019.

MACHMÜLLER, A.; KREUZER, M. C. J. A. S. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 79, n. 1, p. 65-72, 1999.

NEWBOLD, C. J.; CHAMBERLAIN, D. G. Lipids as rumen-defaunation agents. **Proceeding of Nutrition Society**, v. 47, n. 154A, 1988.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. NRC. 2007. **Nutrient requirements of small ruminants**: sheep, goats, cervids, and new world camelids. National Academy of Science, Washintgton, DC 347p.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídios. In: Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G. **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. FUNEP-Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão. Jaboticabal. p. 299-322, 2011.

PEIXOTO, E. L. T.; MIZUBUTI, I. Y.; RIBEIRO, E. L. A.; MOURA, E. S.; PEREIRA, E. S.; PRADO, O. P. P.; PIRES, K. A. Residual frying oil in the diets of sheep: intake, digestibility, nitrogen balance and ruminal parameters. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 30, n. 1, p. 51, 2017.

RENAUDEAU, D.; COLLIN, A.; YAHAV, S.; BASILIO, V.; GOURDINE, J. L.; COLLIER, R. J. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. **Animal**, v. 6, n. 5, p. 707-728, 2012.

RESENDE JÚNIOR, J. C.; ALONSO, L. S.; PEREIRA, M. N.; ROCA A, M. G.; DUBOC, M. V.; OLIVEIRA, E. C.; MELO, L. Q. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 4, p. 526-536, 2006.

RODRIGUES FILHO, M.; ANDRADE, I. F.; LADEIRA, M. M.; RODRIGUES, N. E. B.; LOPES, L. S. Características de carcaça e cortes comerciais de tourinhos Red Norte suplementados com óleos de fritura e soja terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, p. 54-66, 2013.

SAKATA, T.; TAMATE, H. Rumen epithelial cell proliferation accelerated by rapid increase in intraruminal butyrate. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 8, p. 1109-1113, 1978.

SAKATA, T.; TAMATE, H. Rumen epithelium cell proliferation accelerated by propionate and acetate. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 1, p. 49-52, 1979.

SAKATA, T.; HIKOSAKA, K.; SHIOMURA, Y.; TAMATE, H. Stimulatory effect of insulin on ruminal epithelium cell mitosis in adult sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 44, n. 3, p. 325-331, 1980.

SAKATA, T.; TAMATE, H. Effect of the intermittent feeding on the mitotic index and the ultrastructure of basal cells of the ruminal epithelium in the sheep. **Tohoku journal of agricultural research**, v. 25, n. 3/4, p. 156-163, 1975.

SHARMA, M.; VIKRAM, N. K.; MISRA, A.; BHATT, S.; TARIQUE, M.; PARRAY, H. A.; LUTHRA, K. Assessment of 11-β hydroxysteroid dehydrogenase (11-βHSD1) 4478T> G and tumor necrosis factor-α (TNF-α)-308G> A polymorphisms with obesity and insulin resistance in Asian Indians in North India. **Molecular biology reports**, v. 40, n. 11, p. 6261-6270, 2013.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of animal science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SUTTON, J. D.; MCGILLIARD, A. D.; JACOBSON, N. L. Functional development of rumen mucosa. I. Absorptive ability. **Journal of Dairy Science**, v. 46, n. 5, p. 426-436, 1963.

TAMATE, H.; KIKUCHI, T. Electron microscopic study on parakeratotic ruminal epithelium in beef cattle. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 40, p. 21, 1978.

TEÓFILO, T. S.; MOREIRA, M. B.; RESENDE JÚNIOR, J. C. D.; LIMA, R. F. D.; LENZI, G. P., BUENO, P. P.; DANIEL, J. L. P. Efeitos da dieta de transição com

diferentes padrões Energéticos na superfície absortiva ruminal de vacas leiteiras periparturientes. **Ciência Animal Brasileira**, p. 842-846, 2009.

TIAN, C.; WU, J.; JIAO, J.; ZHOU, C.; TAN, Z. A high-grain diet entails alteration in nutrient chemosensing of the rumen epithelium in goats. **Animal Feed Science and Technology**, v. 262, p. 114410, 2020.

VALADARES, S. C., MACHADO, P. A. S., CHIZZOTTI, M. L. **Tabelas Brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. CQBAL 3.0. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2010.

VAN CLEEF, F. D. O. S.; EZEQUIEL, J. M. B.; D'AUREA, A. P.; ALMEIDA, M. T. C.; PEREZ, H. L.; VAN CLEEF, E. H. C. B. Feeding behavior, nutrient digestibility, feedlot performance, carcass traits, and meat characteristics of crossbred lambs fed high levels of yellow grease or soybean oil. **Small Ruminant Research**, v. 137, p. 151-156, 2016.

VÁRADYOVÁ, Z.; KIŠIDAYOVÁ, S.; SIROKA, P.; JALČ, D. Fatty acid profiles of rumen fluid from sheep fed diets supplemented with various oils and effect on the rumen ciliate population. **Czech Journal of Animal Science**, v. 52, n. 11, p. 399, 2007.

WANG, C.; LIU, Q.; GUO, G.; HUO, W. J.; MA, L.; ZHANG, Y. L.; WANG, H. Effects of dietary soybean oil and coated folic acid on ruminal digestion kinetics, fermentation, microbial enzyme activity and bacterial abundance in Jinnan beef steers. **Livestock science**, v. 217, p. 92-98, 2018.

XU, L.; WANG, Y.; LIU, J.; ZHU, W.; MAO, S. Morphological adaptation of sheep's rumen epithelium to high-grain diet entails alteration in the expression of genes

involved in cell cycle regulation, cell proliferation and apoptosis. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 32, 2018.

ZACHARY, J. F.; McGAVIN, D.; McGAVIN, M. D. **Bases da patologia em veterinária**. Elsevier Brasil, 2018.

5. CAPÍTULO 2

Perfil de ácidos graxos da carne de ovinos alimentados com óleo residual de fritura

PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS COM ÓLEO RESIDUAL DE FRITURA

FATTY ACID PROFILE OF SHEEP MEAT FED WITH RESIDUAL FRYING OIL

Tiago da Silva Teófilo[1]*; Patrícia de Oliveira Lima[1]; Maria Viviane Freitas Gomes de Miranda[1]; Jéssica Taiomara Moura Costa Bezerra de Oliveira[1]; José Domingues Fontenele-Neto[1]

[1]Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), 59.625-900, Mossoró-RN, Brasil

*Autor para correspondência: tiagosteofilo@gmail.com

RESUMO: O uso de alimentos alternativos na alimentação de ruminantes pode apresentar características benéficas, tanto do ponto de vista econômico, quanto ambiental. A suplementação de ovinos com óleo residual de fritura (ORF), como estratégia de aumentar o aporte energético dietético pode modular as características da carne desses animais. Com isso, objetivou-se avaliar o perfil de ácidos graxos da carne de ovinos em terminação alimentados com diferentes níveis de ORF. Para isso, 24 ovinos, machos, sem padrão racial definidos, foram distribuídos em um delineamento de blocos casualizados com quatro tratamentos (seis carneiros por tratamento). Os animais foram mantidos a pasto do nascimento até 120 dias e logo após confinados por

60 dias, onde foram submetidos a uma das dietas experimentais, que consistiram em diferentes níveis de inclusão do ORF à dieta (0, 3, 6 e 9%) com base na matéria seca. A carne dos animais alimentados com 6 e 9% de inclusão do óleo apresentou valores menores do ácido oleico (C18:1), quando comparados com o grupo controle. Os animais do grupo controle, apresentaram um menor valor do ácido α-linolênico (C18:3), quando comparados com os demais grupos. Não foram observadas diferenças nos índices trombogênico e aterogênico. A suplementação com 3% do ORF pode ser a melhor estratégia, devido ao aumento simultâneo de ácido α-linolênico e oleico, na carne de cordeiros em terminação.

PALAVRAS-CHAVE: ruminante, alimentos alternativos, subprodutos, índice trombogênico, índice aterogênico, lipídios.

ABSTRACT: The use of alternative foods in the feeding of ruminants can have beneficial characteristics, both from an economic and environmental point of view. Supplementation of sheep with residual frying oil (RFO), as a strategy to increase the dietary energy supply, can modulate the meat characteristics of these animals. With that, the objective was to evaluate the fatty acid profile of meat of finishing sheep fed with different levels of RFO. For this, 24 male sheep, with no defined racial pattern, were distributed in a randomized block design with four treatments (six rams per treatment). The rams were kept on pasture from birth up to 120 days and then confined for 60 days, where they were submitted to one of the experimental diets, which consisted of different levels of inclusion of RFO in the diet (0, 3, 6 and 9%) with based on dry matter. The meat of animals fed with 6 and 9% oil inclusion showed lower values of oleic acid (C18:1), when compared with the control group. The animals in the control group showed a lower value of α-linolenic acid (C18:3), when compared with the other

groups. There were no differences in thrombogenic and atherogenic indices. Supplementation with 3% RFO may be the best strategy, due to the simultaneous increase of α-linolenic and oleic acid, in the meat of finishing lambs.

KEYWORDS: ruminant, alternative foods, by-products, thrombogenic index, atherogenic index, lipids.

INTRODUÇÃO

Os custos de alimentação limitam a atividade de confinamento em muitos países em todo o mundo. O uso de ingredientes alimentares alternativos visa minimizar os custos de produção sem alterar os produtos de origem animal. Os resíduos da indústria alimentícia podem ser fontes de energia alternativas econômicas em dietas para ruminantes, especialmente quando os preços dos ingredientes convencionais são altos. Além das restrições econômicas, a competição entre humanos e animais por grãos limita o nível de inclusão de grãos e afeta negativamente a criação de ovinos (AWAWDEH et al., 2009; VAN CLEEF et al., 2016).

Estratégias que possam reaproveitar o óleo residual de fritura (ORF) (também chamado de graxa amarela), como sua inclusão na alimentação de ruminantes apresentam resultados promissores, conforme relatado em bovinos de corte (PLASCENCIA et al., 1999) e ovinos (VAN CLEEF et al., 2016). O ORF como fonte alternativa de energia é ambientalmente e economicamente benéfico, já que eliminação desse subproduto em países em desenvolvimento tem sido problemático, uma vez que a maior parte do óleo usado é descartada sem rumo no meio ambiente e esgoto (AWAWDEH et al., 2009).

A gordura dietética tem potencial para reduzir o incremento de calor aumentando a eficiência da utilização de energia metabolizável para o crescimento (RENAUDEAU et al., 2012) e pode modular o perfil de ácidos graxos (AG) da carne (FRANCISCO et al., 2015, FACCIOLONGO et al., 2018).

Do ponto de vista da saúde e bem-estar humano, alguns AG saturados (AGS) e AG monoinsaturados (AGMI) afetam negativamente o perfil lipídico do sangue e estão associados ao aumento do risco de doença cardiovascular. Por outro lado, os AG poli-insaturados (AGPI), os de cadeia ramificada e alguns intermediários de bio-hidrogenação dos AGPI podem ter muitos efeitos benéficos em potencial contra câncer e distúrbios inflamatórios em humanos (CHIKWANHA et al., 2018).

A manipulação da dieta foi considerada a estratégia mais eficaz para melhorar o perfil de AG da carne de ovinos. Com isso, é importante conhecer estratégias com potencial para enriquecer a carne com AG que possam trazer benefícios à saúde humana. Dessa forma, objetivou-se avaliar o perfil de ácidos graxos da carne de ovinos alimentados com diferentes níveis de óleo residual de fritura.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram analisados e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (Protocolo Nº 23091.009383/2016-31).

Foram utilizados 24 ovinos machos, sem padrões raciais definidos, não castrados, alojados em baias individuais de $3m^2$, providas de comedouro, saleiro e bebedouro. Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados,

definidos por peso dos animais, com quatro tratamentos e seis repetições. Os animais foram submetidos a um período de adaptação de 14 dias, os quais receberam anti-helmínticos.

Os animais foram mantidos a pasto durante um período de até 120 dias e logo após confinados por um período de 60 dias, onde foram submetidos a uma das dietas experimentais, que consistiram em diferentes níveis de inclusão do óleo de soja residual de fritura à dieta (0, 3, 6 e 9%) com base na matéria seca (Tabela 1). Na formulação das dietas foram considerados os nutrientes dos alimentos que foram fornecidos, previamente determinados em laboratório, conforme preconizações do NRC (2007), para ganho médio diário de 200g. O fornecimento da alimentação foi realizado, diariamente (às 8 e às 16 horas), como ração total, ad libitum, em quantidade suficiente para obter no mínimo uma sobra de 10% do oferecido.

Foram coletadas amostras diárias dos alimentos fornecidos e das sobras, realizadas amostras compostas e armazenadas em um freezer, e posteriormente foram secadas em estufa ventilada a 55ºC, por 72 horas e moídos em moinho tipo Wiley, com peneira com malha de 1 mm e analisados quanto ao conteúdo em matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina e extrato etéreo (EE), segundo Silva e Queiroz (2002). Os teores de carboidratos totais (CT) foram calculados segundo as equações de Sniffen et al. (1992), em que: CT = 100- (%PB+%EE+%MM), enquanto os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados pela fórmula CNF=CT-FDN. Os valores de NDT foram estimados segundo a tabela brasileira de composição química de alimentos – CQBAL 3.0 (VALADARES FILHO et al., 2010). O consumo voluntário de MS, PB, EE, FDN e FDA foi calculado pela diferença entre a quantidade ofertada e a sobra.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais, com diferentes níveis de inclusão de óleo residual de fritura (0, 3, 6 e 9%), fornecidas a ovinos em terminação.

Ingredientes (%)	Nível do óleo residual de fritura (%)			
	0	**3**	**6**	**9**
Feno de tifton	40,00	38,80	37,50	36,30
Milho	36,20	35,10	34,00	32,90
Farelo de soja	22,00	21,30	20,70	20,00
Óleo de soja residual de fritura	0,00	3,00	6,00	9,00
Mistura mineral	1,80	1,80	1,80	1,80
Nutrientes				
Matéria seca (%)	91,88	90,41	90,71	90,75
Matéria orgânica (%MS)	92,70	93,12	93,28	93,24
Matéria mineral (%MS)	7,30	6,88	6,72	6,76
Proteína bruta (%MS)	21,53	21,24	21,06	19,43
Extrato etéreo (%MS)	2,26	3,57	5,82	7,99
Fibra em detergente neutro (%MS)	36,00	34,63	34,95	35,92
Fibra em detergente ácido (%MS)	13,92	14,04	13,71	13,93
Hemicelulose (%MS)	22,08	20,59	21,24	21,99
Lignina (%MS)	2,74	2,86	2,53	2,75
Celulose (%MS)	12,22	12,63	12,75	12,58
Carboidratos totais (%MS)	68,91	68,31	73,26	65,81
Carboidratos não fibrosos (%MS)	32,91	33,68	38,30	29,89
Nutrientes digestíveis totais (%MS)	79,24	76,86	74,49	72,11

[1]Níveis de garantia (nutrientes/kg): Cálcio (máx.) 300g; Cálcio (mín.) 200g; Fósforo (mín.) 50g; Magnésio (mín.) 16,5g; Sódio (mín.) 40g; Enxofre (mín.) 18g; Selênio (mín.) 11mg; Cobre (mín.) 122mg; Cobalto (mín.) 60mg; Ferro (mín.) 3960mg; Iodo (mín.) 85mg; Manganês (mín.) 2000mg; Zinco (mín.) 2100mg; Vitamina A (mín.) 112000UI; Vitamina D3 (mín.) 22000UI; Vitamina E (mín.) 830 UI; Flúor (máx.) 1000mg.

Após o período experimental, os ovinos foram submetidos a um jejum sólido de 12 horas e então abatidos. O abate ocorreu em abatedouro sob inspeção municipal, através da insensibilização pelo método de concussão percussiva não penetrativa, seguido de sangria, com corte da carótida e jugular, em atendimento a legislação vigente (BRASIL, 2000).

Amostras do músculo *Longissimus dorsi* foram coletadas entre a 12ª e a 13ª costelas, após 24 horas de resfriamento da carcaça e armazenadas em freezer com temperatura de –80 °C, para determinação do perfil de ácidos graxos através da técnica de Cromatografia Gasosa com detector de ionização de chama, de acordo com a metodologia de Hartman e Lago (1973).

Uma amostra de 0,5g da carne foi saponificada com 5mL de solução de hidróxido de sódio 0,5 N em metanol, seguida de metilação com uma solução de cloreto de amônia, metanol e ácido sulfúrico. Após esse procedimento, foram adicionados 5mL de hexano e 10ml de água saturada com cloreto de sódio, para separação dos ésteres de ácidos graxos. 1 µL dessa solução foi injetado em cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama (Shimadzu, CG-2010) equipado com coluna capilar de polietilenoglicol de 60m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e espessura do filme 0,25µm (Inowax) e gás hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 2mL/min. As condições cromatográficas foram: temperatura inicial da coluna de 140 ºC por 5 minutos e elevação de 5 ºC/minuto até 230 ºC; após, 230 ºC, manutenção por 30 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram elevadas até 250ºC e 260ºC, respectivamente, onde foram mantidas.

Os ácidos graxos foram identificados por comparação com os tempos de retenção apresentados pelos padrões cromatográficos de comparação de éster metílico

adquiridos da Nu-Check Prep (Elysian, MN). As concentrações dos ésteres de ácidos graxos foram determinadas pelas áreas de pico apresentadas no cromatograma para cada ácido em relação à área total dos ácidos graxos e, os dados foram expressos como porcentagem da área de cada ácido graxo.

Os índices aterogênicos (IA) e trombogênicos (IT), considerados como indicadores de saúde relacionado ao risco de doença cardiovascular, foram determinados de acordo com Ulbricht e Southgate (1991), utilizando as seguintes equações:

$$IA = \frac{[(4xC14{:}0) + C16{:}0 + C18{:}0]}{[\sum AGMI + \sum APPI - n6 + \sum AGPI - n3]}$$

$$IT = \frac{C14{:}0 + C16{:}0 + C18{:}0}{(0{,}5\ x\ AGMI + 0{,}5\ x\ AGPI - n6 + 3\ x\ AGPI - n3) + (AGPI - n3)/(AGPI - n6)}$$

Onde: IA = Índice aterogênico; IT = Índice trombogênico; AGMI = Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGPI = Ácidos Graxos Poliinsaturados

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SAS (SAS INSTITUTE, 2002), considerando-se os níveis de inclusão do óleo (0, 3, 6 e 9%). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ingestão de matéria seca diária diferiu entre os tratamentos, quando avaliados em gramas por dia, sendo o valor superior para o tratamento sem a inclusão do óleo residual de fritura. A ingestão de extrato etéreo (EE) diferiu significativamente entre

todos os tratamentos. Em relação ao consumo de gramas por dia deste nutriente, pode-se observar um crescimento com o aumento nos níveis de inclusão do ORF. O ganho de peso foi influenciado pelos níveis de adição do ORF, onde foi observado um menor ganho nos animais suplementados com 9% do ORF (Tabela 2).

Peixoto et al. (2017), também avaliando os efeitos do ORF na dieta de ovinos sobre consumo e digestibilidade de alimentos, observaram um efeito linear decrescente sobre o consumo de matéria seca, e um aumento linear na ingestão de EE. Neste trabalho não foram observadas alterações na digestibilidade da maioria dos nutrientes (com exceção do EE), bem como no balanço de nitrogênio e na concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen. No entanto, o desempenho dos animais não foi avaliado.

Tabela 2 – Ingestão de matéria seca e ganho de peso de ovinos alimentados com diferentes níveis de óleo residual de fritura.

Variáveis	**Nível do óleo residual de fritura (%)**				**EPM[1]**	***P*[2]**
	0	**3**	**6**	**9**		
IMS (g)	1150,31^{a}	1071,30^{b}	1081,95^{ab}	1051,75^{b}	18,67	0,011
IEE (g)	26,95^{d}	42,50^{c}	71,35^{b}	95,65^{a}	1,72	<0,001
Peso Inicial	15,29	15,18	15,59	15,90	0,52	0,763
Peso Final	26,68^{ab}	26,97^{ab}	28,22^{a}	25,6^{b}	0,66	0,046
Ganho de Peso	11,39^{a}	11,78^{a}	12,63^{a}	9,36^{b}	0,46	0,001

Médias seguidas por letras diferentes na linha, indicam diferença entre si pelo teste Tukey (P<0,05). IMS = ingestão de matéria seca; IEE = ingestão de extrato etéreo. [1]Erro padrão da média; [2]Valor de probabilidade.

O perfil de ácidos graxos da carne dos ovinos suplementados com diferentes níveis de ORF estão sumarizados na Tabela 3. O emprego das dietas experimentais proporcionou diferenças significativas isoladamente apenas entre os teores dos ácidos oleico e linolênico.

Tabela 3. Perfil de ácidos graxos (AG) da carne de ovinos alimentados com diferentes níveis (0, 3, 6 e 9%) de óleo residual de fritura, durante o período de terminação.

AG	0%	3%	6%	9%	Média	P valor	DPM
C12:0	4,84	6,67	5,38	5,81	5,67	0,952	2,56
C14:0	1,92	2,01	2,51	2,15	2,15	0,071	0,43
C14:1	1,97	1,95	1,63	1,44	1,74	0,435	0,65
C16:0	23,64	23,13	23,10	23,14	23,25	0,976	2,28
C16:1	1,82	2,47	1,92	2,14	2,09	0,977	1,14
C17:0	1,45	1,36	1,15	1,59	1,38	0,725	0,63
C18:0	17,67	15,86	15,66	15,11	16,12	0,817	4,54
C18:1	39.55[a]	34.54[ab]	33.32[b]	32.46[b]	34,98	0,010	4,31
C18:2	1,71	1,79	1,95	2,39	1,96	0,372	0,91
C18:3	5.44[b]	10.80[a]	10.23[a]	10.17[a]	9.16	0,004	3,21

*Letras minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Em todos os grupos avaliados, o ácido oleico apresentou os maiores valores. Resultados semelhantes foram detectados por Costa et al. (2015), na carne de ovino de diferentes genótipos e alimentados com diferentes dietas. O ácido oleico tem função hipocolesterolêmica, já que atua elevando o HDL plasmático (LOPES et al., 2012). Os animais alimentados com 6 e 9% de inclusão do óleo apresentaram valores menores do ácido oleico (C18:1), quando comparados com os do grupo controle e dos animais suplementados com 3% do ORF.

Os animais do grupo controle, apresentaram um menor valor do ácido α-linolênico (C18:3), quando comparados com os demais grupos (Tabela 3). O ácido α-linolênico, não influencia nos níveis de LDL plasmáticos em humanos como mencionado por Menezes et al. (2009), segundo eles, esse ácido graxo é precursor de

hormônios eicosanoides e faz parte dos fosfolipídios de membrana, apresentando efeito benéfico.

Os ácidos graxos (AG) da dieta consumidos pelos ovinos, como outros ruminantes, podem sofrer bio-hidrogenação, resultando em altas proporções de AG saturados (AGS) na carne. A bio-hidrogenação é tipicamente menos extensa em ovinos do que em bovinos e, consequentemente, a carne de ovinos pode conter proporções maiores de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) e intermediários de bio-hidrogenação dos AGPI, incluindo ácido linoleico conjugado (CLA), AG monoinsaturados e, um conteúdo caracteristicamente mais alto de AG de cadeia ramificada (CHIKWANHA et al., 2018).

Não foram observadas diferenças na relação entre os ácidos graxos insaturados (AGI) e saturados, bem como nos índices trombogênico e aterogênico na carne dos animais, independentemente do nível de suplementação de ORF (Tabela 4).

A suplementação com óleo de soja até 4,5% da dieta aumentou as concentrações de AGMI, AGPI, C18: 1 trans-11 (precursor da síntese endógena de ácido rumênico), C18: 2 trans-10, cis-12 (fator antiobesidade), ômega-3, a razão insaturado: saturado e reduziu o índice de aterogenicidade no leite de cabras (SILVA et al., 2020).

Tabela 4. Relação entre os ácidos graxos insaturados (AGI) e saturados (AGS), índice aterogênico (IA) e índice trombogênico (IT) da carne de ovinos alimentados com diferentes níveis (0, 3, 6 e 9%) de óleo residual de fritura, durante o período de terminação.

Parâmetros	**Nível de Inclusão**				**Média**	***P* valor**	**CV (%)**
	0%	**3%**	**6%**	**9%**			
AGI/AGS	0,99	0,95	0,98	0,91	0,96	0,869	12,29
IA	0,36	0,36	0,40	0,39	0,38	0,337	12,67
IT	0,95	0,75	0,75	0,72	0,79	0,137	23,58

Szumacher-Strabel et al. (2004) avaliando o efeito da suplementação com 4% diferentes óleos (canola, soja, linhaça e peixe) como fonte de ácidos graxos poliinsaturados em dietas de cordeiros, observaram que o óleo de linhaça reduziu a proporção de ácidos graxos poliinsaturados n-6 para n-3, enquanto o óleo de soja e o de peixe aumentou essa proporção na gordura intramuscular. Todos os óleos suplementados aumentaram o CLA intramuscular.

Manso et al. (2009) avaliando a composição intramuscular de ácidos graxos de cordeiros com adição de 4% de óleo de semente de girassol ou óleo de palma na dieta, observaram que a inclusão do óleo de girassol diminuiu C16: 0 e aumentou a proporção C18:1 trans ($P < 0,01$) e C18:1 cis-11. Entretanto, a proporção de ácido linolênico (C18: 3) diminuiu com a suplementação desse óleo no concentrado, o que levou a uma maior proporção de C18:2/C18:3. O óleo de palma não causou alterações significativas em comparação ao grupo controle. Os AG saturados, monoinsaturado, poli-insaturados e o índice aterogênico não foram afetados por nenhum dos dois óleos.

CONCLUSÃO

A suplementação com ORF não altera a relação de AG insaturados:saturados, os índices trombogênicos e aterogênicos. No entanto, a suplementação com 3% do ORF pode ser a melhor estratégia, devido ao aumento simultâneo de ácido α-linolênico e oleico, na carne de cordeiros em terminação, constituindo uma alternativa para o aproveitamento desse resíduo da indústria alimentar.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Jorge Vinícius Fernandes Lima Cavalcanti, da Universidade Federal de Pernambuco, pela valorosa ajuda nas análises cromatográficas.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não existir conflito de qualquer natureza.

REFERÊNCIAS

AWAWDEH, M. S.; OBEIDAT, B. S.; KRIDLI, R. T. Yellow grease as an alternative energy source for nursing Awassi ewes and their suckling lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 152, n. 3-4, p. 165-174, 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa n. 3, de 17 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue**, 2000.

CHIKWANHA, O. C.; VAHMANI, P.; MUCHENJE, V.; DUGAN, M. E.; MAPIYE, C. Nutritional enhancement of sheep meat fatty acid profile for human health and wellbeing. **Food Research International**, v. 104, p. 25-38, 2018.

COSTA, R. G.; SANTOS, N. M. D.; QUEIROGA, R. D. C. R. D.; SOUSA, W. H. D.; MADRUGA, M. S.; CARTAXO, F. Q. Physicochemical characteristics and fatty acid profile of meat from lambs with different genotypes and diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 7, p. 248-254, 2015.

FACCIOLONGO, A. M.; Lestingi, A.; Colonna, M. A.; Nicastro, F.; Marzo, D.; Toteda, F. Effect of diet lipid source (linseed vs. soybean) and gender on performance, meat quality and intramuscular fatty acid composition in fattening lambs. **Small ruminant research**, v. 159, p. 11-17, 2018.

FRANCISCO, A.; Dentinho, M. T.; Alves, S. P.; Portugal, P. V.; Fernandes, F.; Sengo, S.; Bessa, R. J. B. Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented with increasing levels of a tanniferous bush (Cistus ladanifer L.) and vegetable oils. **Meat Science**, v. 100, p. 275-282, 2015.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory practice**, v. 22, n. 6, p. 475-6 passim, 1973.

LOPES, L. S.; LADEIRA, M. M.; MACHADO NETO, O. R.; RAMOS, E. M.; PAULINO, P. V. R.; CHIZZOTTI, M. L.; GUERREIRO, M. C. Composição química e

de ácidos graxos do músculo longissimus dorsi e da gordura subcutânea de tourinhos Red Norte e Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 978-985, 2012.

MANSO, T.; Bodas, R.; Castro, T.; Jimeno, V.; Mantecon, A. R. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. **Meat Science**, v. 83, n. 3, p. 511-516, 2009.

MENEZES, L. F. G. D.; RESTLE, J.; BRONDANI, I. L.; KOZLOSKI, G. V.; DESCHAMPS, F.; SACHET, R. H. Perfil de ácidos graxos na carne de novilhos Charolês e Nelore puros e de gerações avançadas do cruzamento rotativo, terminados em confinamento. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2478-2484, 2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. NRC. 2007. **Nutrient requirements of small ruminants**: sheep, goats, cervids, and new world camelids. National Academy of Science, Washintgton, DC 347p.

PLASCENCIA, A.; ESTRADA, M.; ZINN, R. A. Influence of free fatty acid content on the feeding value of yellow grease in finishing diets for feedlot cattle. **Journal of animal science**, v. 77, n. 10, p. 2603-2609, 1999.

RENAUDEAU, D.; COLLIN, A.; YAHAV, S.; BASILIO, V.; GOURDINE, J. L.; COLLIER, R. J. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. **Animal**, v. 6, n. 5, p. 707-728, 2012.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SILVA, L. S.; CAVALCANTI, J. V. F. L.; MAGALHÃES, A. L. R.; SANTORO, K. R.; GONÇALVES, G. D.; SANTANA, L. P. V.; ALMEIDA, O. C. Soybean oil modulates the fatty acid synthesis in the mammary gland, improving nutritional quality of the goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 183, p. 106041, 2020.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of animal science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SZUMACHER-STRABEL, M.; Potkański, A.; Cieślak, A.; Kowalczyk, J.; Czauderna, M. Effect of adding fat to the diet for lambs on the fatty acid profile of intramuscular, perirenal and subcutaneous fat. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 13, p. 355-358, 2004.

ULBRICHT, T. L. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **The lancet**, v. 338, n. 8773, p. 985-992, 1991.

VALADARES, S. C., MACHADO, P. A. S., CHIZZOTTI, M. L. **Tabelas Brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. CQBAL 3.0. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2010.

VAN CLEEF, F. D. O. S.; EZEQUIEL, J. M. B.; D'AUREA, A. P.; ALMEIDA, M. T. C.; PEREZ, H. L.; VAN CLEEF, E. H. C. B. Feeding behavior, nutrient digestibility, feedlot performance, carcass traits, and meat characteristics of crossbred lambs fed high levels of yellow grease or soybean oil. **Small Ruminant Research**, v. 137, p. 151-156, 2016.