



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

**Efeito da suplementação da dieta de frangos contendo *Spirulina* com enzimas exógenas sobre os índices zootécnicos e a qualidade da carne**

BRENO HENRIQUE PUERTA

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutor José Pedro da Costa Cardoso  
de Lemos

Doutor Rui José Branquinho de Bessa

Doutora Maria Madalena dos Santos  
Lordelo Redford

**ORIENTADORA**

Doutora Maria Madalena dos Santos  
Lordelo Redford

**CO-ORIENTADOR**

Doutor José António Mestre Prates

2019  
LISBOA





UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

**Efeito da suplementação da dieta de frangos contendo *Spirulina* com enzimas  
exógenas sobre os índices zootécnicos e a qualidade da carne**

BRENO HENRIQUE PUERTA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutor José Pedro da Costa Cardoso  
de Lemos

Doutor Rui José Branquinho de Bessa

Doutora Maria Madalena dos Santos  
Lordelo Redford

**ORIENTADORA**

Doutora Maria Madalena dos Santos  
Lordelo Redford

**CO-ORIENTADOR**

Doutor José António Mestre Prates

2019  
LISBOA

“E vai partir sem bilhete de volta,  
Melhor se apressar, o trem vai passar,  
Certeza não há, caminhos são tantos,  
Teu velho orgulhoso, tua mãe aos prantos.  
Um All-Star no pé e uma mochila nas costas,  
O mundo me espera, não dá pra voltar,  
Se meu coração aqui não acha respostas,  
Eu vou procurar em outro lugar.”  
(Terra Celta)

Aos meus pais e ao meu amor.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente aos meus pais, Danilo e Naida, pelo apoio e incentivo concedidos durante todos esses anos, principalmente durante o Mestrado, por todo o amor e educação despendidos e, também, por sempre estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis. Muito obrigado.

À minha namorada Juliana Nunes, por todo seu amor, apoio e companheirismo durante todos esses anos. Por sempre estar ao meu lado nos momentos mais difíceis e fazer todo o possível para que eu nunca desistisse. Muito obrigado.

À Professora Doutora Maria Madalena dos Santos Lordelo Redford, minha orientadora, pela sua disponibilidade desde início dos ensaios, por todo seu apoio para a realização das tarefas, por ter aceitado me orientar, pelas suas sugestões e confiança para a realização do projeto.

Agradeço ao Professor Doutor José António Mestre Prates, meu co-orientador, por ter me aceito e me integrado à secção de Bioquímica da FMV, pela confiança depositada em mim para participar ativamente do grupo e dos projetos realizados, pela sua disponibilidade, ensinamentos e constante apoio.

Um agradecimento em especial ao Pedro Oliveira e toda sua família, por terem me acolhido e me ajudado muito desde meus primeiros dias em Portugal. Por terem feito me sentir mais próximo de casa e mais próximo de uma família. Muito obrigado.

À colega Helena Santos, pela sua amizade, por toda ajuda prestada durante todo o ensaio, pelo conhecimento transmitido durante o mestrado e na realização da tese.

Ao grupo da Bioquímica, Paula, Zé, Diogo, Marta, Professora Cristina e D. Ana, por terem me acolhido, por tudo o que aprendi com vocês, pela amizade, companheirismo e por sempre estarem dispostos a me ajudar.

A todos os professores que tive a oportunidade de conhecer durante o Mestrado, pelo conhecimento e ensinamentos durante as aulas.

À D. Maria Paula e ao Lotus, pela amizade, simpatia e por todo auxílio e amparo concedidos desde o primeiro contato com a faculdade.

À D. Maria José, pelas conversas divertidas no corredor e por me fazer sorrir em alguns momentos difíceis.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Ulisboa, pela estrutura, oportunidade de aprendizado e por ter me acolhido durante a realização deste Mestrado.

Ao Instituto Superior de Agronomia, à Engenheira Cátia, Engenheiro David e D. Jorgina, pela simpatia e por toda a ajuda dada durante o ensaio.

À todos os responsáveis dos laboratórios de nutrição e tecnologia de alimentos por ter cedido o espaço para que pudéssemos realizar nossas análises.

A todos o meu muito obrigado!

## RESUMO

### **Efeito da suplementação da dieta contendo *Spirulina* com enzimas exógenas sobre os índices zootécnicos e qualidade da carne de frangos**

Diante do crescente consumo de carne, além da carne vermelha, vem aumentando a preocupação quanto ao desenvolvimento agropecuário para o abastecimento da população mundial. Desse modo, diversas estratégias e estudos têm visado a introdução de alguns aditivos e nutrientes na alimentação de frangos de corte, com a finalidade de melhorar o desempenho zootécnico das aves, agregando substâncias benéficas ao animal e ao consumidor. O uso de enzimas exógenas, como a lisozima e o complexo multienzimático Rovabio®, é uma alternativa para a melhoria da digestibilidade de polissacarídeos não amiláceos presentes em cereais. A microalga *Spirulina* é considerada uma ótima fonte de aminoácidos essenciais, proteínas, vitaminas, sais minerais e lipídios, e tais características motivam sua utilização na composição de dietas para animais. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi preparar e caracterizar dietas contendo a microalga *Spirulina*, juntamente com as enzimas lisozima e Rovabio®, para a avaliação da influência desses componentes na performance zootécnica de frangos, além da qualidade nutricional e sensorial da carne. No ensaio experimental, cinco dietas à base de milho e soja (iniciação, dieta controle, dieta com microalga *Spirulina* (15%); dieta com *Spirulina* (15%) e Rovabio® (0,005%) e dieta com *Spirulina* (15%) e lisozima (0,01%) foram aplicadas em 120 frangos machos (estirpe Ross 308) durante seus 35 dias iniciais de vida. Foram avaliados os efeitos das dietas no desempenho zootécnico dos frangos, coloração e pH da carne, força de corte, perda de água por cozimento e na análise sensorial. Na análise do desempenho zootécnico dos animais, observou-se que, em geral, a dieta com lisozima apresentou resultados inferiores no peso final dos animais e no índice de conversão alimentar. Em relação à análise dos órgãos do sistema digestivo, a dieta contendo *Spirulina* foi responsável pelo aumento do comprimento do intestino delgado, enquanto a adição de lisozima influenciou no maior índice de viscosidade. Além disso, as amostras com microalga apresentaram menor suculência e diferenças na coloração em relação ao controle, com o aumento do parâmetro  $b^*$ . Esses resultados sugerem a absorção de caroteno e zeaxantina presentes nas dietas com *Spirulina* e um menor teor de lipídios presentes nas amostras que, possivelmente, podem ser modulados com alterações nas concentrações da microalga.

Palavras-chave: *Spirulina*, frangos, Rovabio®, lisozima

## ABSTRACT

### **Effect of dietary supplementation containing *Spirulina* with exogenous enzymes on the zootechnical indexes and broiler meat quality**

In view of the growing consumption of meat, in addition to red meat, the concern with the agricultural development to supply the world population have been increased. Therefore, several strategies and studies have aimed at the introduction of some additives and nutrients in the feeding of broilers, with the purpose of improving the zootechnical performance of broilers, adding beneficial substances to the animal and the consumer. The use of exogenous enzymes, such as lysozyme and Rovabio® multienzyme complex, is an alternative for improving the digestibility of non-starch polysaccharides present in cereals. The *Spirulina* microalgae is considered a good source of essential amino acids, proteins, vitamins, minerals and lipids, and such characteristics motivate their use in the composition of animal diets. In this context, the objective of the present study was to prepare and characterize diets containing the *Spirulina* microalgae, together with the enzyme lysozyme and Rovabio®, to evaluate the influence of these components on the zootechnical performance of chickens, besides the nutritional and sensorial quality of the meat. In the experimental trial, five diets based on corn and soybean (initiation, control diet, diet with *Spirulina* microalgae (15%), diet with *Spirulina* and Rovabio® (0.005%) and diet with *Spirulina* (15%) and lysozyme (0.01%) were applied to 120 male broilers (Ross 308 strain) during their initial 35 days of life. The effects of the diets on broiler performance, meat color and pH, cutting force, water loss per cooking and sensorial analysis were evaluated. In the analysis of the zootechnical performance of the animals, it was observed that, in general, the diet with lysozyme presented lower results in the final weight of the animals and in the feed conversion index. In relation to the analysis of the organs of the digestive system, the diet containing *Spirulina* was responsible for the increase in the length of the small intestine, while the addition of lysozyme influenced the higher viscosity index. In addition, the samples with microalgae presented lower succulence and differences in coloration in relation to control, with the increase of parameter b\*. These results suggest the absorption of carotene and zeaxanthin present in the diets with *Spirulina* and a lower content of lipids present in the samples that, possibly, can be modulated with changes in the concentrations of the microalgae.

Keywords: *Spirulina*, broiler, Rovabio<sup>®</sup>, lysozyme.

## SUMÁRIO

Epígrafe .....	i
Dedicatória .....	ii
Agradecimento .....	iii
Resumo .....	v
Abstract .....	vii
Lista de tabelas .....	xi
Lista de figuras .....	xii
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Frangos de carne .....	3
2.1.1 Produção e consumo de frangos de carne .....	3
2.1.2 Tipos de produção de frangos de frangos de carne .....	5
2.1.3 Alimentação dos frangos .....	6
2.1.4 Sistema digestivo dos frangos .....	8
2.2 Composição da carne de frango .....	10
2.3 Enzimas na suplementação de dietas para frangos .....	13
2.4 Microalgas na suplementação de dietas para frangos .....	17
2.4.1 <i>Spirulina (Arthrospira platensis)</i> .....	18
2.5 Objetivos .....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
3.1 Desempenho zootécnico .....	22
3.1.1 Dietas experimentais dos frangos .....	22
3.1.2 Alocação e tratamento dos animais .....	24
3.2 Determinação da cor e pH .....	26
3.3 Determinação da força de corte e da perda de água por cozimento .....	26
3.4 Análise sensorial .....	29
3.5 Análise estatística .....	31

4. RESULTADOS.....	33
4.1 Análise das dietas .....	33
4.2 Efeito da dieta no desempenho zootécnico .....	33
4.3 Influência da dieta no peso e comprimento de alguns órgãos do sistema digestório .....	37
4.4 Influência da dieta no pH e na cor da carne .....	40
4.5 Efeito da dieta na força de corte e na perda de água por cozimento .....	41
4.6 Efeito da dieta na análise sensorial .....	42
 5. DISCUSSÃO .....	 44
5.1 Efeito da dieta no desempenho zootécnico .....	44
5.2 Influência da dieta no peso e comprimento de alguns órgãos do sistema digestório .....	49
5.3 Influência da dieta no pH e na cor da carne .....	50
5.4 Efeito da dieta na força de corte e na perda de água por cozimento .....	53
5.5 Efeito da dieta na análise sensorial .....	54
 6. CONCLUSÃO .....	 55
 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	 56

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Setor da produção de frangos – números de abates de frango e consumo no período de 2010 a 2016 .....	4
Tabela 2 - Composição centesimal da carne de frango com e sem pele .....	11
Tabela 3 – Principais enzimas comerciais e benefícios na produção de aves .....	14
Tabela 4 – Tipos de lisozimas .....	16
Tabela 5 – Composição bioquímica de algumas espécies de microalgas (% peso seco) .....	19
Tabela 6 - Ingredientes e análise da composição química das dietas experimentais .....	23
Tabela 7 - Análise química das dietas .....	32
Tabela 8 - Valores do peso (g) dos frangos em função das dietas .....	33
Tabela 9 - Efeito do regime na ingestão diária (valores em g) .....	34
Tabela 10 - Efeito das dietas no ganho médio diário (valores em g) .....	35
Tabela 11 - Efeitos dos tipos de dietas no índice de conversão alimentar (IC) (g/g) .....	36
Tabela 12 - Efeito dos regimes no peso relativo (g/kg de peso vivo) e no comprimento (cm/kg de peso vivo) de vários órgãos do sistema digestório .....	37
Tabela 13 - Efeito dos regimes na viscosidade dos conteúdos do duodeno, jejuno e íleo .....	38
Tabela 14 - Valores de pH e cor no peito e na coxa .....	40
Tabela 15 - Valores da força de corte (N) e da perda de água (%) nos músculos do peito e coxa .....	41
Tabela 16 - Análise sensorial do músculo do peito .....	41

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Percentagem de consumo de carne per capita na UE-28 em 2016 .....	5
Figura 2 - Fluxograma representativo de produção numa empresa avícola .....	6
Figura 3 - Identificação dos órgãos do sistema digestivo de um frango .....	9
Figura 4 - Representação da ação da lisozima na ligação glicosídica $\beta$ (1 – 4) entre o ácido N-acetilmurâmico e N-acetil-D-glucosamina .....	16
Figura 5 - Micrografia da microalga <i>Spirulina</i> (a) e amostra de <i>Spirulina</i> em pó (b) ..	19
Figura 6 - Aspecto visual: (a) dieta controlo e (b) dietas com a microalga <i>Spirulina</i> .	24
Figura 7 - Sala e gaiolas utilizadas para o ensaio dos frangos .....	25
Figura 8 - Amostras embaladas individualmente para cozedura .....	27
Figura 9 - Banho-maria utilizado para cozedura das amostras .....	27
Figura 10 - Termómetro utilizado para medição da temperatura interna das amostras e da água .....	28
Figura 11 - Amostas após o processo de cozedura .....	28
Figura 12 - Cortes realizados nas amostras após o cozimento para determinação da força de corte .....	29
Figura 13 - Amostras embaladas individualmente pré cozedura .....	39
Figura 14 - Banho utilizado na análise sensorial (a) e banho com as amostras (b) ..	30
Figura 15 - Amostra após a cozedura .....	30
Figura 16 - Amostras em cubos nas placas de petri .....	31
Figura 17 – Amostras nas placas de 6 poços prontas para serem entregues aos painelistas .....	31
Figura 18 - Comparativo de um animal: (a) dia 1 e (b) dia 35 do ensaio .....	33
Figura 19 - Moela de animal da dieta controlo e moela de animal da dieta com <i>Spirulina</i> .....	38
Figura 20 - Comparação das fezes dos animais: (a) dieta controlo e (b) dietas contendo <i>Spirulina</i> .....	39

Figura 21 - Amostra do músculo do peito das aves: (a) dieta controlo e (b) dietas contendo <i>Spirulina</i> .....	39
---	----



# 1. INTRODUÇÃO

A carne continua sendo parte de um importante grupo alimentar na dieta de muitos consumidores ao redor do mundo (McAfee, 2010; Delgado, 2003). Além disso, é conhecida por sua rica fonte de proteínas e da gama de nutrientes, considerados essenciais para o desenvolvimento e crescimento do ser humano (Higgs, 2000; Milicevic, *et al.* 2015).

São diversos os benefícios dos componentes da carne vermelha, tais como ferro, zinco e fósforo. No entanto, diversas pesquisas têm associado o seu consumo e, também, o da carne processada, com o desenvolvimento de doenças crônicas, como o câncer de cólon, além dos riscos inerentes ao teor de lipídios e o risco do seu cozimento em temperaturas elevadas (Cosgrove *et al.*, 2005; World Cancer Research Fund Network, 2018).

A carne de porco tem sido a mais consumida na Europa, entretanto, o consumo de carne de aves, especificamente os frangos de carne, tem aumentado exponencialmente nos últimos anos, em oposição às demais espécies de animais (OECD/FAO 2018).

As atividades da cadeia produtiva de frango estão em constante evolução (Murakami *et al.*, 2010). Segundo o USDA (2018), há previsão de crescimento de 2% nesse mercado em 2018, principalmente para os Estados Unidos, Brasil, Índia e União Europeia, podendo chegar a 92,5 milhões de toneladas de frangos de carne prontos para consumo. Esse aumento vem sendo impulsionado com a queda dos preços dos alimentos e da carne final, além de menores riscos de patogenias na criação e, principalmente, com a demanda da população (USDA, 2018).

Ademais, nos últimos anos, o setor da avicultura se tornou mais dinâmico e diversificado por diversos fatores, destacando o consumidor que, atualmente, apresenta-se mais preocupado com questões de sustentabilidade e bem-estar animal. Atualmente, é possível notar uma crescente preferência pelo consumo de carnes magras a carnes vermelhas, a exemplo do frango, visto a maior conscientização da população quanto aos riscos de doenças cardiovasculares relacionadas ao elevado consumo de lipídios (Cosgrove *et al.*, 2005; FAO, 2010; Dinh *et al.*, 2011).

Desta forma, diversas pesquisas têm sido voltadas ao aumento da produtividade de frangos e, principalmente, para a melhoria desse tipo de carne,

aprimorando sua qualidade sensorial para melhor aceitação no mercado e, também, agregando nutrientes na composição da dieta que possam beneficiar, tanto o consumidor, quanto no desenvolvimento dos animais.

Outros estudos têm investigado as propriedades das microalgas agregadas às dietas de aves. Atualmente, sabe-se que as microalgas, a exemplo da *Spirulina* e *Chlorella vulgaris*, possuem elevada capacidade fotossintética e produção de biomassa, com a possibilidade de serem alternativas mais eficientes e econômicas para o fornecimento de nutrientes às aves (Lum *et al.*, 2013; Anyanwu *et al.*, 2018).

São múltiplas as vantagens da suplementação de enzimas exógenas na digestibilidade de polissacarídeos não amiláceos presentes em macronutrientes que, usualmente, compõem a alimentação dos frangos, como a soja, o milho e o trigo (Choct *et al.*, 2004; Eichner, 2015). Diversas pesquisas têm demonstrado que a incorporação de determinados complexos enzimáticos nas dietas podem resultar na melhoria da digestibilidade dos cereais, diversificando a microbiota intestinal do animal e auxiliando na absorção de nutrientes (Annison & Choct, 1991; Bedford & Cowieson, 2012; Chamorro *et al.*, 2017; Diógenes *et al.*, 2017).

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Frangos de carne**

#### **2.1.1 Produção e consumo de frangos de carne**

O termo aves domésticas, em inglês conhecido como “poultry”, refere-se às espécies aviárias criadas para consumo de ovos, carne e penas. Neste termo estão incluídos os perus, frangos, patos, gansos, codornas, faisões, entre outros. No entanto, sendo cerca de 90% da população avícola constituída por frangos, frequentemente o termo aves domésticas é utilizado como sinônimo de frango (FAO, 2014).

Em relação à produção mundial de carnes, em geral, foi 1,2% maior em 2017, comparada ao ano de 2016, aumento que ocorreu principalmente nos Estados Unidos. De acordo com a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), a produção global de carne está projetada para um crescimento de 16% em 2025, quando comparada ao período de 2013 a 2015, sendo que a carne de aves será uma das mais consumidas (FAO, 2018). Números como estes evidenciam a necessidade de uma produção mais efetiva do crescimento animal para o atendimento satisfatório do mercado.

Em 2017, as carnes de aves tiveram o segundo maior consumo na União Europeia em relação aos demais tipos de carne com, aproximadamente, 24,2 kg/per capita/ano. Os quatro maiores produtores de carne de frango em 2017 foram os Estados Unidos, com cerca de 18,7 milhões de toneladas/ano, o Brasil com 13 milhões de toneladas/ano, a União Europeia com 11,6 milhões de toneladas/ano e China com 11,6 milhões de toneladas/ano (ABPA, 2017; FAO, 2018).

Já em relação ao consumo, os Estados Unidos se mantiveram no primeiro lugar, com 15,6 milhões de toneladas/ano, enquanto a China ocupou o segundo lugar com 11,5 milhões de toneladas/ano, a União Europeia em terceiro com 11,2 milhões de toneladas/ano e o Brasil em quarto lugar, com um consumo de 9,3 milhões de toneladas/ano (ABPA, 2017; FAO, 2018).

Segundo o IACA 2017, a produção de carne de aves em Portugal registrou um

aumento de 2014 a 2016, passando de 835.669 toneladas para 893.133 toneladas. Contribuíram para esse crescimento o aumento da produção das carnes de frango, pato e peru, diante da estabilização da carne de porco. Contudo, os suínos ainda lideram a produção, com 399.674 toneladas em 2016, seguidos dos frangos de carne (301.572 toneladas) e bovinos (90.704 toneladas). Em 2016, cerca de 190,4 milhões de aves foram abatidas em Portugal, gerando 265,1 mil toneladas de carnes aprovadas para consumo, registrando um aumento de 11,7 mil toneladas, comparado ao ano de 2015, conforme tabela 1.

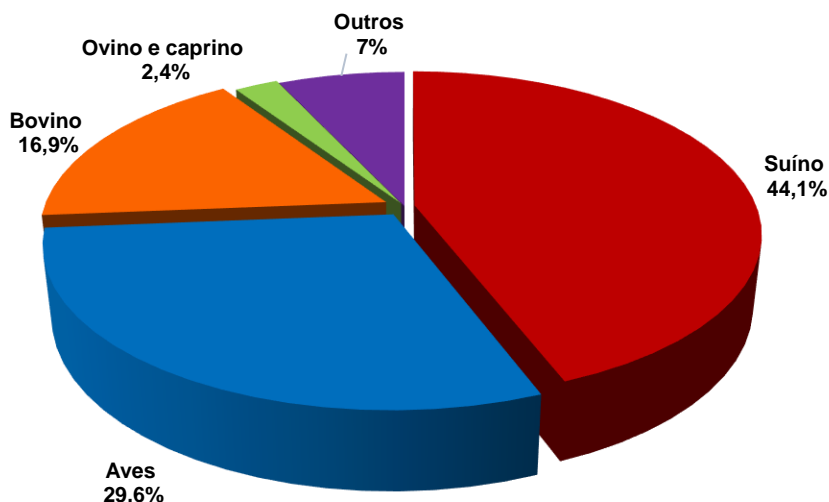
Tabela 1 – Setor da produção de frangos – números de abates de frango e consumo no período de 2010 a 2016

<b>Abates de frango e carne aprovada para consumo</b>							
<b>Unidade: milhões de aves/ mil toneladas</b>							
<b>Ano</b>	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<b>Nº de aves</b>	174,9	176,8	175,5	174,9	176,1	186,4	190,4
<b>Carne de frango</b>	239,2	237,3	237,5	238,1	241,1	253,4	265,1

Fonte: Adaptada de IACA 2017.

Da mesma forma, na UE-28 a produção de carne aumentou 1,6% em 2016, comparada 2015, essencialmente pela produção de frangos e bovinos. Na União Europeia, o consumo de carne encontra-se estabilizado, com 91 kg/hab/ano, sendo a carne de porco a mais consumida (40 kg/hab/ano) e a carne de frango, em segundo lugar, com 27 kg/hab/ano, como pode ser observado na figura 1 (IACA, 2017).

Figura 1 - Percentagem de consumo de carne per capita na UE-28 em 2016.



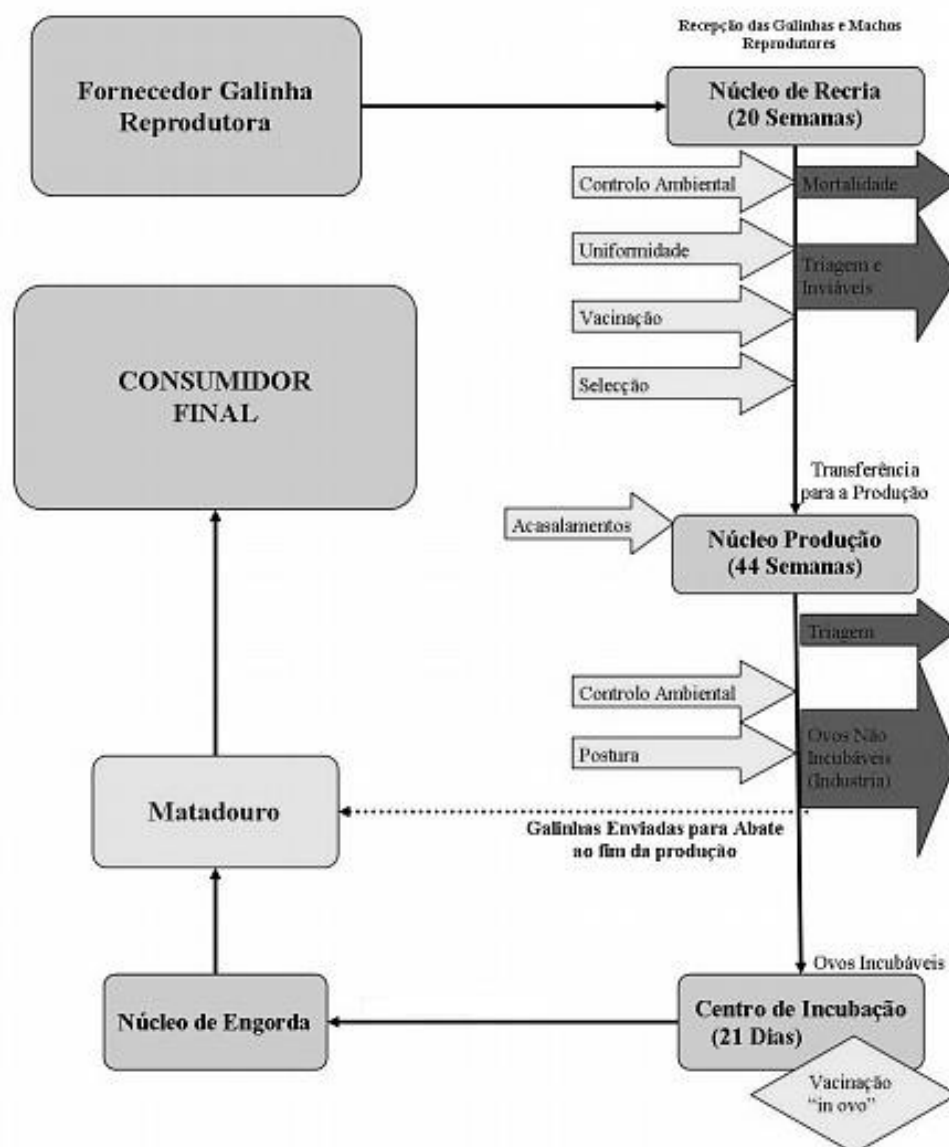
Fonte: Adaptada de IACA 2017.

### 2.1.2 Tipos de produção de frangos de carne

Em Portugal, existem dois sistemas principais para produção de frangos de carne. No primeiro, sistema intensivo, ocorre o crescimento controlado e acelerado dos animais, sendo o mais executado pelos avicultores. O segundo tipo, sistema extensivo, envolve um maior custo, pois as aves têm um crescimento mais lento. Nos últimos anos, um maior número de avicultores tem diversificado o modelo produtivo a fim de alcançar o consumidor preocupado com questões de bem-estar animal e sustentabilidade (FAO, 2010).

Sendo o setor avícola um dos mais dinâmicos, o aumento do consumo de frangos de carne gerou a necessidade de modernização, e isto ocorreu com a melhor integração e profissionalização do sistema desde a produção até o consumo. Como representado na figura 2, são diversos os setores que precisam trabalhar de forma especializada, como na criação de galinhas, incubadoras, alimentação, matadouro e distribuição (Marques, 2013).

Figura 2 - Fluxograma representativo de produção numa empresa avícola



Fonte: Adaptado de Marques (2013).

### 2.1.3 Alimentação dos frangos

A alimentação é a etapa do processo de produção de frango de carne que possui maior impacto no bem-estar animal, gerando melhor eficiência e rentabilidade do setor (Ross Broiler-Management Handbook, 2014). A dieta utilizada possui importante papel para determinar a taxa de crescimento dos frangos de carnes, sendo o seu consumo essencial para o aumento o ganho de peso (Abdollahi, Zaefarian & Ravindran, 2018).

Nos frangos de carne ocorre nos primeiros 42 dias de crescimento a fase mais lucrativa, (embora na produção padrão o tempo de abate fica em torno de 28 á 35 dias) em que há um rápido ganho de peso corporal por unidade de consumo de alimento (Gholami *et al.*, 2017). A dieta dos frangos de corte deve ser composta por ingredientes de boa qualidade nutricional e física, melhorando sua digestibilidade (Abdollahi, Zaefarian & Ravindran, 2018).

Os ingredientes utilizados no processo de fabricação da dieta devem ser moídos, principalmente os grãos de cereais, com o propósito de diminuir o tamanho das partículas, o que, conseqüentemente, aumenta a superfície de contato dos grânulos, facilitando a homogeneidade e diminuindo segregações da mistura (Behnke, 1996; Koch, 1996). Os principais ingredientes utilizados nas dietas de frangos de corte são:

- Milho;
- Soja;
- Trigo;
- Girassol;
- Óleos;
- Calcário;
- Minerais e vitaminas;
- Sal;
- Bicarbonato de sódio;
- Outros aditivos, como enzimas, ligantes de micotoxinas.

O milho (*Zea mays*) é extensivamente utilizado como um dos ingredientes principais nas dietas das aves (Boonsinchai *et al.*, 2016). Seu valor nutricional já é conhecido e possui elevado teor energético, comparado aos demais cereais (Torres *et al.*, 2003). Além disso, o milho possui uma elevada quantidade de amido facilmente digerido, pois este detém uma quantidade elevada de amilopectina que facilita esse processo (Nunes *et al.*, 2010).

A soja é um grão que possui várias espécies, sendo a *Glycinemax* (L.) Merrill de maior comercialização mundial. Em geral, a maioria apresenta um teor de 36 a 40% de proteínas, 34% de carboidratos, 20% de lipídios e 5% de minerais (Ribeiro, 2016). Devido ao seu valor nutritivo, concentração de proteína e disponibilidade no

mercado, a soja também é uma importante matéria-prima muito utilizada em dietas de frangos de carne (Costa *et al.* 2015).

Em relação ao óleo de soja, observa-se a presença de ácidos graxos poli-insaturados linoleico ( $\omega$ -6) e linolênico ( $\omega$ -3). Em uma pesquisa realizada por Ribeiro *et al.* (2007) concluiu-se que a inclusão de ácido linoleico na dieta de matrizes aumentou o peso do ovo e influenciou na composição de ácidos graxos da gema.

Em relação ao trigo (*Triticum* L), o amido é o carboidrato mais abundante e o principal gerador de energia. O teor de amido pode variar de 60 a 75% e é inversamente proporcional ao teor de proteína do trigo (Amerah, 2015). De acordo com Pirgozliev *et al.* (2003), Amerah *et al.* (2009) e Ravindran & Son (2011), o trigo pode responder por 35% das necessidades de proteína dos frangos de corte e até 70% da energia metabolizável. Contudo, a relação amilose/amilopectina e interações com outros componentes da endosperma podem interferir na digestibilidade do amido presente.

O trigo possui uma concentração maior de proteína em relação ao milho, podendo sofrer variações de 8 a 16%, de acordo com a variedade comercial. (Amerah, 2015). No entanto, numa pesquisa realizada por Ravindran *et al.* (2005) relatou-se que, frangos alimentados com dietas baseadas em trigo são propensos à deficiência de lisina e treonina, por serem aminoácidos essenciais menos digestíveis.

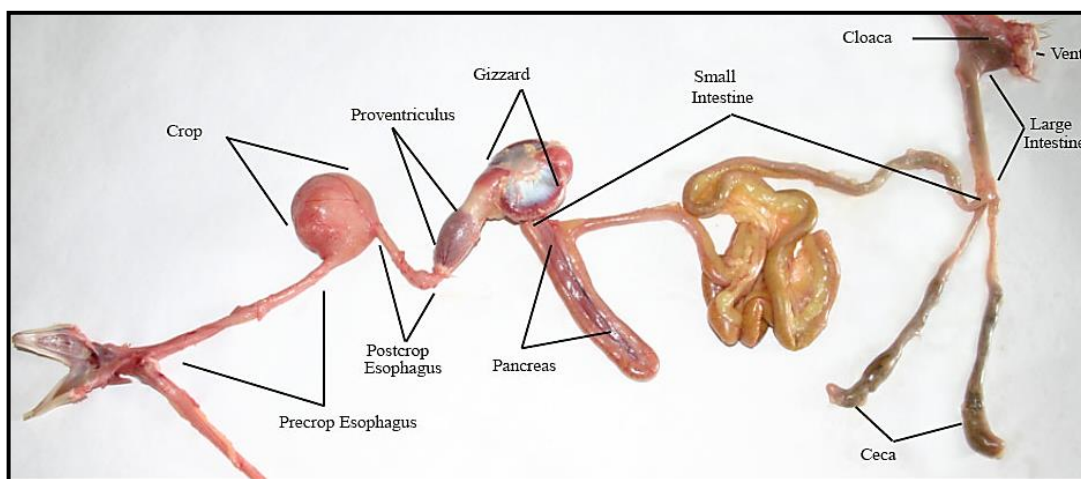
Os ingredientes citados anteriormente, assim como outros ingredientes que podem ser agregados na formulação da dieta, possuem polissacarídeos não-amiláceos (PNA's), principais constituintes da parede celular de alimentos de origem vegetal, tendo como exemplo a celulose, hemicelulose, quitina e pectina (Brito *et al.*, 2008).

Esses polissacarídeos são resistentes à hidrólise no sistema digestivo das aves e ao interagir com a água, formam um gel viscoso, elevando a viscosidade da dieta, diminuindo a taxa de difusão de substratos e enzimas e impedindo a interação destas com a superfície da mucosa intestinas das aves. Desta forma, há um comprometimento da absorção e da metabolização de certos nutrientes da dieta (Choct *et al.*, 2004).

#### 2.1.4 Sistema digestivo dos frangos

O sistema digestivo dos frangos desempenha um papel importante na digestão e absorção de nutrientes presentes na alimentação, enquanto exerce uma função de barreira no organismo (Yang *et al.*, 2018). Na figura 3 pode-se observar o sistema digestivo de um frango.

Figura 3 – Identificação dos órgãos do sistema digestivo de um frango



Fonte: [http://www.geauga4h.org/poultry/chicken\\_digestion.htm](http://www.geauga4h.org/poultry/chicken_digestion.htm)

O crescimento dos frangos ocorre de forma acelerada, comparando ao tempo de crescimento de outros animais (Mendes, 2014). Após a eclosão, ocorrem mudanças fisiológicas e morfológicas no sistema digestivo que promovem o aumento da superfície de contato para a maior absorção de nutrientes (Nir *et al.*, 1993; Nunes *et al.*, 2011).

De acordo com Nitsan *et al.* (1991), o sistema digestivo de uma ave se desenvolve mais rapidamente, em comparação com o restante do corpo, pulmões e coração, a exemplo do intestino delgado que apresenta capacidade de crescimento alométrico de até quatro vezes acima ao da carcaça total da ave.

Desta forma, o bom desenvolvimento e funcionamento do sistema digestivo torna-se essencial para uma produção de qualidade. Além disso, há uma resposta muito rápida em relação ao alimento utilizado, podendo-se observar diferenças diárias no crescimento e ganho de peso dos animais (Mendes, 2014, Santos, 2008).

A utilização de dietas com polissacarídeos não amiláceos (PNA's) pode influenciar no crescimento e aumento do peso do sistema digestivo (duodeno, íleo, jejuno e ceco), como um resposta adaptativa para que ocorra uma melhor absorção dos nutrientes e, também, da viscosidade do intestino, porém, isso pode diminuir o

contato com as enzimas responsáveis pela digestão, o que leva à redução da absorção de nutrientes, desenvolvimento e desempenho dos frangos de corte (Choct & Annison, 1992; Jorgensen *et al.*, 1996).

Os órgãos presentes no sistema digestivo possuem funções e características específicas. Em seguida, estão descritos aqueles que foram utilizados e analisados nesse trabalho:

- Papo: tem como função controlar a velocidade do trânsito digestivo e armazenar o alimento, liberando o alimento quando a moela está vazia. O tempo de permanência do alimento em seu interior pode variar de 1 a 2 horas e o seu pH permanece entre 4,4 e 4,9 (Mendes, 2014, Santos, 2008);
- Proventrículo: considerado o estômago químico, o alimento chega do papo e sofre ação do suco digestivo que inicia o processo de digestão do alimento (Mendes, 2014, Santos, 2008);
- Moela: órgão com pH entre 2,2 e 3,6, conhecido como estômago mecânico. O alimento é recebido do próventrículo e em seguida, é triturado através de contrações musculares e digerido, passando para o intestino delgado (Mendes, 2014, Santos, 2008);
- Intestino delgado: é o órgão de maior comprimento do sistema digestivo, sendo dividido em duodeno, jejuno e íleo. Após a passagem do alimento pela moela, o intestino delgado tem a função de absorver a maior parcela dos nutrientes disponíveis dos alimentos (Mendes, 2014, Santos, 2008);
- Cecos: são localizados entre o intestino delgado e intestino grosso. Têm a função de armazenar bolo alimentar oriundo do intestino delgado, controlar sua passagem para o intestino grosso e reabsorver parte da água presente (Mendes, 2014, Santos, 2008).

## 2.2 Composição da carne de frango

A composição química da carne de frango pode variar de acordo com a criação e a alimentação. Geralmente, são compostas por água (60 a 80%), proteínas (15 a 25%), contendo, também, lipídios (aproximadamente 5%), vitaminas (complexo B) e sais minerais (Castellini *et al.*, 2002). A tabela 2 mostra a composição centesimal média presente em frangos de carne.

Tabela 2 - Composição centesimal da carne de frango com e sem pele

<b>Nutrientes</b>	<b>Frango de carne (crua)</b>		<b>Unidade</b>
	<b>Com pele</b>	<b>Sem pele</b>	
<b>Água</b>	65,90	75,46	g
<b>Energia</b>	215	119	kcal
<b>Proteína</b>	18,60	21,39	g
<b>Lipídio total</b>	15,06	3,08	g
<b>Carboidrato</b>	0	0	g
<b>Fibra</b>	0	0	g
<b>Lipídios</b>			
<b>AG Saturados</b>	4,31	0,79	g
<b>AG Monoinsaturados</b>	6,24	0,90	g
<b>AG Polinsaturados</b>	3,23	0,75	g
<b>Colesterol</b>	75	70	mg
<b>Minerais</b>			
<b>Cálcio</b>	11	12	mg
<b>Ferro</b>	0,90	0,89	mg
<b>Magnésio</b>	20	25	mg
<b>Fósforo</b>	147	173	mg
<b>Potássio</b>	189	229	mg
<b>Sódio</b>	70	77	mg
<b>Zinco</b>	1,31	1,54	mg
<b>Cobre</b>	0,05	0,05	mg
<b>Manganês</b>	0,02	0,02	mg
<b>Selênio</b>	14,4	15,7	µg
<b>Vitaminas</b>			
<b>C</b>	1,6	2,3	mg
<b>Tiamina</b>	0,06	0,7	mg
<b>Riboflavina</b>	0,12	0,14	mg
<b>Niacina</b>	6,80	8,24	mg
<b>Ac. Pantotênico</b>	0,91	1,06	mg
<b>B6</b>	0,35	0,43	µg
<b>Folato total</b>	6	7	µg
<b>B12</b>	0,31	0,37	µg
<b>Retinol</b>	12	16	µg

Fonte: Adaptado de Souza-Soares & Siewerdt (2005).

Com relação ao conteúdo de lipídios, algumas alterações são passíveis de ocorrer ao longo do animal, podendo essa diferença ser maior, tanto por influência da dieta, como também, pelo sexo, idade e tipo de criação da ave (Castellini *et al.*, 2002; Souza-Soares & Siewerdt, 2005).

Na produção avícola é necessário um conhecimento do conteúdo nutricional dos alimentos para um melhor desempenho e fornecimento adequado de energia aos

animais. De acordo com Murakami *et al.* (2010), as gorduras têm a função de aumentar a densidade energética das dietas, sendo ótimas fornecedoras de energia rapidamente disponível e de ácidos graxos essenciais para as aves. Sua adição nos alimentos pode beneficiar na melhoria da taxa de crescimento dos frangos, na utilização de nutrientes, além do conteúdo de energia metabolizável, palatabilidade e absorção de vitaminas lipossolúveis da dieta (Junqueira *et al.*, 2005).

O teor de gordura presente na carne é um dos indicativos de sua qualidade. Em geral, a região das sobrecoxas e da cavidade abdominal possui um maior depósito de gordura, visto serem regiões onde a reserva de energia é importante para o isolamento térmico e desempenho físico. Já o músculo do peito de frango não necessita de elevado estoque de energia e torna-se o local com o menor teor de gordura da ave (Souza-Soares & Siewerdt, 2005).

Os lipídios presentes na carne de frango influenciam sua suculência e aceitação, pois alteram características sensoriais como o sabor, cor e aroma (Overland *et al.*, 2011). Sabe-se que alterações na dieta acarretam variações na deposição de gordura no tecido muscular, o que depende da relação lipídica com a proteína. Desta forma, a elevada concentração de proteína tende a estimular a deposição de tecido magro, enquanto a alta proporção de energia em relação à proteína leva à maior deposição de gordura (Souza-Soares & Siewerdt, 2005; Venturini *et al.*, 2007).

Além disso, a carne de frango também apresenta diferentes concentrações de colesterol. Este tipo de gordura é classificada como um esteroide, podendo ser absorvida pela dieta ou sintetizada pelo próprio organismo (Dinh *et al.*, 2011). Segundo Souza & Visentainer (2006), as concentrações de colesterol podem variar no corte analisado, podendo a coxa sem pele apresentar uma proporção maior, cerca de 199 mg/100 g de carne, comparada ao peito sem pele com 115 mg/100 g de carne.

Essa mesma fração gordurosa, no entanto, é constantemente associada ao risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Devido ao aumento do seu consumo e preocupação dos consumidores, algumas pesquisas têm mostrado a possibilidade de alterar as concentrações de lipídios em frangos de carne através da utilização de azeite, probióticos e óleo de girassol (Crespo & Esteve-Garcia, 2001; Hussein & Selim, 2018).

Desde o processo de abate até o armazenamento e comercialização, a carne

de frango é sujeita ao processo de oxidação lipídica e crescimento microbiológico. Essa oxidação, geralmente, reduz a qualidade da carne, alterando características sensoriais como o sabor, coloração, textura e até mesmo o valor nutricional, diminuindo a aceitabilidade dos consumidores (Cheng, 2016).

A carne de frango, assim como outros tipos de carne magra, possui uma elevada percentagem de fosfolipídeos nas membranas celulares. Estes apresentam uma elevada quantidade de ácidos graxos insaturados, o que os tornam mais sensíveis à oxidação, em comparação com outros tipos de lipídios, e contribui significativamente para a característica de rancidez na carne (Ilgene *et al.*, 1980).

Existem alguns mecanismos para o processo oxidativo dos lipídios presentes na carne, podendo ocorrer tanto por reações enzimáticas, como não enzimáticas. A auto-oxidação é um dos mecanismos que mais contribui nesse tipo de reação, em que um elétron desemparelhado no átomo atrai e reage com elétrons de outros compostos estáveis, tornando-se um radical livre. Os radicais livres presentes no oxigênio reagem com os ácidos graxos poli-insaturados, produzindo peróxidos lipídicos nas membranas celulares, além de causar danos às proteínas, enzimas e ácidos nucleicos (Cheng, 2016).

### 2.3 Enzimas na suplementação de dietas para frangos

As proteínas são biomacromoléculas compostas por aminoácidos que se unem por ligações peptídicas, formando uma ou várias cadeias polipeptídicas. Em relação às funcionalidades, algumas proteínas possuem função de suporte e estrutura (colágeno), regulação (hormônios), catálise biológica (enzimas), transporte (hemoglobina), movimento (actina e miosina), nutrição (caseína) e defesa (anticorpos) (Dubey & Verma, 2019).

As enzimas, geralmente, são biocatalizadores que possuem a função de acelerar as reações químicas e garantir especificidade ao substrato, o que gera interesse para a pesquisa e formulação de produtos de fins comerciais (Lutz, 2010). Sendo as aves praticamente incapazes de degradar polissacarídeos insolúveis, faz-se necessário o emprego de enzimas exógenas correspondentes aos substratos específicos dos alimentos para suplementação e melhora da digestão dos cereais presentes na dieta (Krabbe & Mazzuco, 2011; Chamorro *et al.*, 2017).

Devido às inconveniências da não digestão dos polissacarídeos não-amiláceos por animais monogástricos, como as aves, diversas dietas de frangos de carne visam adicionar enzimas para reduzir ou eliminar fatores antinutricionais presentes nos grãos dos cereais, aumentando, assim, a disponibilidade dos nutrientes que o animal não fora capaz de digerir (Annison *et al.*, 1996).

A utilização de enzimas na avicultura vem ocorrendo desde a década de 1950, período em que Fry *et al.* (1958) observaram que as aves tiveram um melhor aproveitamento nutricional dos grãos umedecidos e suplementados com enzimas. Atualmente, grande parte das dietas de frangos de carne incluem enzimas, além disso, diversas pesquisas têm sido realizadas na área da nutrição, com o objetivo de buscar alternativas de formulações de dietas mais econômicas e eficientes para o mercado avícola (Strada *et al.*, 2005). A tabela 3 mostra algumas das principais enzimas comerciais utilizadas na produção de aves.

Tabela 3 – Principais enzimas comerciais e benefícios na produção de aves

Enzima	Substrato	Efeito
<b>Xilanase</b>	Arabinoxilanos	Redução da viscosidade da digesta intestinal
<b>Glucanase</b>	$\beta$ - glucanos	Redução da viscosidade da digesta intestinal, melhora em características da cama, redução de ovos sujos
<b>Pectinase</b>	Pectinas	Redução da viscosidade da digesta intestinal
<b>Celulase</b>	Celulose	Degradação da celulose liberando mais nutrientes.
<b>Proteases</b>	Proteínas	Suplementação sobre enzimas endógenas, degradação mais eficiente.
<b>Amilases</b>	Amido	Suplementação sobre enzimas endógenas, degradação mais eficiente.
<b>Fitases</b>	Ácido fítico	Melhora a utilização do fósforo fítico presente nos grãos.
<b>Galactosidases</b>	Alfa galactosídios	Remoção de alfa galactosídios, melhora na disponibilidade dos nutrientes.

Fonte: Krabbe & Mazzuco (2011).

Em um estudo realizado por Garcia *et al.* (2000), observou-se que a adição de um complexo enzimático, contendo alfa-galactosidase, pectinases, celulase e proteases, em dietas com farelo e soja integral para frangos de carne (1 a 42 dias), houve melhoria da utilização da energia metabolizável, aminoácidos e proteínas. De forma semelhante, Leite *et al.* (2011) concluíram que o emprego de complexo enzimático em dieta contendo sorgo melhorou a conversão alimentar na fase inicial de criação dos frangos.

Além disso, de acordo com Campestrini *et al.* (2005), a utilização de enzimas exógenas pode potencializar a ação de enzimas endógenas, diminuindo a excreção de fósforo e nitrogênio nas fezes, melhorando o aproveitamento de nutrientes pelo animal.

O Rovabio® tem sido um tipo de complexo multi-enzimático extensivamente utilizado na nutrição de aves devido à sua capacidade de otimizar o aumento da digestibilidade dos PNA's presentes nos vegetais que compõem a dieta (Adisseo, 2014). Em geral, esse produto é constituído por diferentes atividades enzimáticas, como: amilases, xinalases, celulasas, pectinases, proteases e  $\beta$ -glucanases, produzidas pelo fungo *Penicillium funiculosum* (Toledo *et al.*, 2007).

Em um estudo realizado por Viana *et al.* (2009) avaliou-se a adição do complexo enzimático Rovabio® Max, contendo  $\beta$ -glucanases, xilanases, pectinases, proteases e fitase, em dietas à base de milho e farelo de soja, os resultados concluíram que o complexo foi eficiente para poedeiras, pois reduziu o índice de conversão alimentar, aumentando o nível de postura e valores de energia metabolizável aparente, além de reter maiores concentrações de fósforo no animal.

Devido ao fato desse complexo enzimático ser utilizado comercialmente em cereais com o intuito de degradar a parede desses alimentos, nós decidimos testá-lo na microalga para saber se poderá produzir o mesmo efeito.

O uso isolado da enzima protease foi avaliado por Mahmood *et al.* (2017), em que se observou que a suplementação de farinha de subprodutos de cereais com protease reduziu a necessidade do consumo de proteína bruta pelas aves. Stefanello *et al.* (2017) avaliaram o efeito positivo da introdução de  $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -xinalase em dietas de milho e soja de frangos de carne, com aumento nos rendimentos estimados de energia.

Por sua vez, Farrell & Martin (1998), ao realizarem um estudo da adição de preparações enzimáticas (xinalase,  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -glucanase e protease) em farelo de arroz para frangos e patos, não observaram nenhuma influência positiva das enzimas no crescimento das aves. No entanto, ao inserir enzimas nas dietas, deve-se conhecer suas limitações, pois sua ótima funcionalidade depende de fatores como pH, temperatura, quantidade de substrato e da enzima e polaridade (Dubey & Verma, 2019).

Outro tipo de enzima que vem sendo pesquisada são as lisozimas, podendo ser encontradas em todos os principais organismos vivos, em seus diversos fluidos corporais, como a clara do ovo, extremamente rica em lisozima do tipo C (comum em galinhas). Na tabela 4 estão descritos os tipos de lisozimas presentes nos seres vivos.

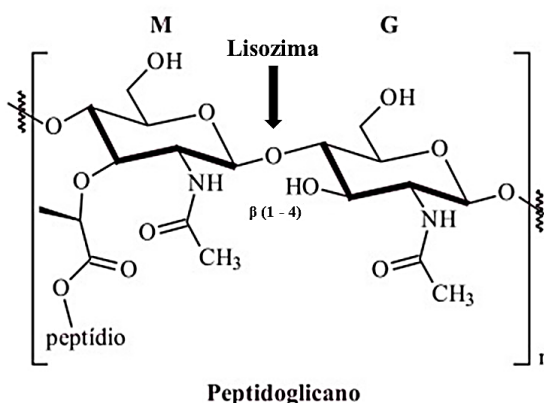
Tabela 4 – Tipos de lisozimas

Tipo de lisozima	Fonte
<b>c (Galinha)</b>	Clara ovo de galinha
<b>g (Ganso)</b>	Pássaros
<b>h (Hevamine)</b>	Plantas
<b>b (Cevada)</b>	Plantas
<b>i- (Invertebrados)</b>	Moluscos e insetos
<b>v</b>	Vírus
<b>p</b>	Roedores

Fonte: Adaptado de Sahoo *et al.* (2012)

As lisozimas são proteínas antimicrobianas com funções importantes no sistema imunológico (Nile *et al.*, 2004). São definidas como 1,4- $\beta$ -N-acetilmuramidase e têm a capacidade de hidrolisar as ligações glicosídicas  $\beta$  entre o ácido N-acetilmurâmico e N-acetil-D-glucosamina em um peptídeooglicano (Phillips, 1966). A figura 4 representa o rompimento da ligação glicosídica  $\beta$  (1 – 4) pela atividade da lisozima.

Figura 4 – Representação da ação da lisozima na ligação glicosídica  $\beta$  (1 – 4) entre o ácido N-acetilmurâmico e N-acetil-D-glucosamina



Fonte: Adaptado de Liesen *et al* (2008).

A utilização da lisozima em dietas de frangos pode ter resultados diferentes. De acordo com Humphrey *et al.* (2002), a adição de 10% de lisozima em arroz transgênico melhorou o consumo da dieta e a taxa de conversão alimentar (TCA). Já Liu *et al.* (2010) não obtiveram efeitos positivos no ganho de peso e na TCA em comparação aos frangos sem a suplementação enzimática.

Através de ensaios laboratoriais com a utilização de várias enzimas no nosso laboratório (resultados não apresentados), a lisozima se mostrou mais eficiente em relação as outras testadas ao degradar a parede da microalga, por isso foi escolhida para ser utilizada neste trabalho.

## 2.4 Microalgas na suplementação de dietas para frangos

A nutrição de frangos é usualmente baseada em cereais, como exemplificado anteriormente. Contudo, esses alimentos são considerados *commodities* (matérias primas produzidas em grande escala) e seus valores tendem a oscilar constantemente no cenário internacional. Além disso, o aumento da demanda de carne tem ocasionado diversos problemas para que a agropecuária consiga fornecer alimento à todas as criações de animais, sendo recorrentes as situações de privação de água, degradação da terra e mudanças climáticas (FAO, 2011; Prestigiacomo *et al.*, 2019).

Em consequência desses fatores, torna-se necessária a realização de pesquisas que busquem matérias-primas mais eficientes e sustentáveis dentro do sistema agropecuário (Madeira *et al.*, 2017). Nos últimos anos, vem crescendo o interesse pela busca de alternativas que possam substituir parcialmente determinados ingredientes usados na composição da dieta de animais, além de agregar valor nutricional nas dietas, melhorando o desempenho das aves (Lum *et al.*, 2013; Devos *et al.*, 2006; Navarro *et al.*, 2016).

As algas são organismos fotossintéticos e autotróficos, podendo ser divididas em macroalgas (multicelulares) e microalgas (unicelulares) (Adeniyi *et al.*, 2018). Estima-se a existência de 100.000 espécies de microalgas, contudo, conhece-se apenas uma pequena parcela, 30.000 espécies, das quais algumas são utilizadas e pesquisadas quanto ao potencial na produção de biocombustíveis renováveis e produtos bioativos, além de atuar como biofertilizantes auxiliando na fixação de

nitrogênio (Chisti, 2007).

Pode-se definir as microalgas tanto como estruturas celulares procariontes, quanto eucariontes, com uma diversidade de características fisiológicas e bioquímicas, sendo as principais diatomáceas (*Bacillariophyceae*); azul e verde azulada cianobactéria (*Arthrospira platensis*, anteriormente denominada *Spirulina*); verde (*Chlorophyceae*); vermelha (*Rhodophyceae*) e dourada (*Chrysophyceae*) (Vassilev & VAssileva, 2016; Madeira *et al.*, 2017).

O crescimento desses micro-organismos ocorre autotofricamente pela utilização de luz, CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) e compostos orgânicos, usados como fontes de energia (Sathasivam *et al.*, 2017). A biomassa produzida pelas microalgas pode ser utilizada como fonte de biocompostos e, também, de alimento (Abinandan *et al.*, 2019). Os lipídios extraídos, por exemplo, podem ser aplicados em fármacos e biocombustíveis (Ferreira *et al.*, 2015).

De acordo com Austic *et al.* (2013), o uso de microalgas em dietas de animais vem sendo estudado há muito tempo, no entanto, somente a literatura mais recente, datando de 1990, intensificou esse interesse com a tentativa de suplementar algumas dietas com lipídios extraídos de microalgas.

Em um estudo realizado por Combs (1952), foi observado que a suplementação de algas da espécie *Chlorella* sp (10%) em uma dieta deficiente em vitamina A e riboflavina melhorou o crescimento dos frangos e a eficiência alimentar. Posteriormente, Lipstein & Hurwitz (1983) analisaram as algas *Chlorella* e *Micractinium* e concluíram que a farinha de algas é rica em proteínas e aminoácidos essenciais potencialmente importantes na nutrição de aves.

Pesquisas recentes revelaram que as microalgas podem ser cultivadas com a finalidade de fornecer carboidratos, proteínas, micronutrientes, lipídios e sais minerais para elaboração de cosméticos, corantes alimentícios, suplementos e alimentos para seres humanos, biocombustíveis, biofertilizantes, medicamentos e em dietas de animais (Chisti, 2007; Priyadarshani & Rath, 2012; Chen *et al.*, 2018).

#### 2.4.1 *Spirulina* (*Arthrospira platensis*)

O crescente interesse pela utilização de microalgas na nutrição animal tem como principal objetivo a utilização de uma alimento mais sustentável em relação aos

outros já existentes, mas, também baseia-se na alta capacidade fotossintética destas, gerando elevados teores de nutrientes (Garrido-Cardenas *et al.*, 2018; Phwan *et al.*, 2018).

A composição pode variar de acordo com a espécie da microalga, como exemplificado na tabela 5, onde é possível observar que algumas são mais ricas em proteínas, enquanto outras possuem elevada percentagem de lipídios, podendo superar culturas tradicionais (Lum *et al.*, 2013; Roza, 2017).

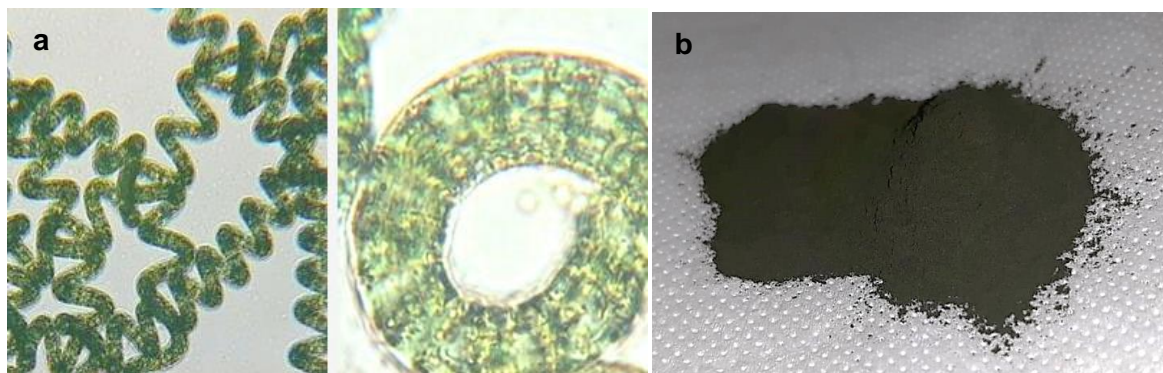
Tabela 5 – Composição bioquímica de algumas espécies de microalgas (% peso seco)

Espécie	Proteínas (%)	Carboidratos (%)	Lipídios (%)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51–58	12–17	14–22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28–39	40–57	9–14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50–56	10–17	12–14
<i>Spirulina maxima</i>	60–71	11–13	6–7

Fonte: Adaptado de Anyanwu *et al.* (2018).

A microalga *Spirulina*, conhecida atualmente como *Arthrospira platensis*, também denominada de “alga verde azulada” devido à sua coloração, é um tipo de cianobactéria espiralada, filamentosa e fotossintética, como pode ser observado na figura 5 (Yoshida & Hoshii, 1980; Toyomizu *et al.* 2010; Madeira *et al.*, 2017).

Figura 5 – Micrografia da microalga *Spirulina* (a) e amostra de *Spirulina* em pó (b)



Fonte: (a) Wisdom Super Foods; (b) Elaborado pelo próprio autor.

Há séculos, tem sido utilizada como alimento por diferentes populações, contudo, seu primeiro isolamento foi realizado em 1827 por Turpin em um riacho de água doce e, posteriormente, diversas espécies foram encontradas em água doce, viveiro de peixes, fontes termais, brejos e água do mar (Ciferri, 1983; Usharani *et al.*, 2012).

Em geral, a *Spirulina* é considerada uma ótima fonte de aminoácidos essenciais, proteínas, vitaminas, sais minerais e lipídios (Toyomizu *et al.*, 2010). Também é rica em carotenoides e antioxidantes, sendo aplicada em diversas pesquisas como uma das variáveis de dietas e frangos para avaliação do ovo, coloração e textura da carne e, também, do crescimento e economia do processo de criação (Jamil *et al.*, 2015).

Segundo um estudo realizado por Ross & Dominy (1990), a adição de *Spirulina* (1,5% a 12%) como fonte proteica, pode substituir o farelo de soja sem afetar o ganho de peso do frango. Evans *et al.* (2015) avaliaram a suplementação da dieta de frangos com diferentes concentrações de alga *Spirulina* (0, 6, 11, 16 e 21%), ao final observaram que os resultados da dieta contendo até 16% de alga tiveram um nível maior de digestão de cisteína, lisina e metionina.

Em outro estudo realizado por Mariey *et al.* (2012), foi avaliada a suplementação dietética de *Spirulina* sobre o desempenho de galinhas. Eles observaram que a microalga (0,2%) melhorou a capacidade de absorção das vitaminas da dieta, melhorando a função imunitária e a eficiência econômica em 63,8%, comparada à dieta controle.

Em geral, os trabalhos realizados utilizam a microalga *Spirulina* em diversas concentrações, variando de 0,01% a 21%, e apresentam resultados distintos mediante o tipo de dieta, tipo de animais, duração do ensaio e até quanto à idade dos animais.

Ross & Dominy (1990) e Venkataraman *et al.*, (1994) são trabalhos pioneiros nessa área e evidenciam resultados significativos com a adição de *Spirulina* em baixas porcentagens (inferiores a 10%) nas dietas à base de milho e soja. Alguns trabalhos alcançam resultados significativos com altos teores de *Spirulina* (superiores a 10%) em dietas que ocorrem uma substituição de um ingrediente considerado inferior em relação à microalga (Venkataraman *et al.*, 1994).

Em contrapartida, há estudos mais recentes como Mirzaie *et al.* (2018) e Bonos

*et al.*, (2016) que não atingiram alterações na performance dos animais com a utilização da *Spirulina* em concentrações inferiores à 10%, mesmo com a utilização desde o início da vida dos animais, porém, podem ocorrer melhorias significativas na resposta imunitária dos animais (Mirzaie *et al.*, 2018).

Na literatura não existem relatos da utilização da microalga *Spirulina* junto com a lisozima ou Rovabio®, também não foi encontrado a utilização de outras enzimas junto com a microalga. Esse trabalho ajuda a comunidade científica mostrando essa opção da utilização de enzimas junto com a microalga.

## 2.5 Objetivos

Este trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar a inserção da microalga *Spirulina* juntamente às enzimas exógenas lisozima e Rovabio® em dietas de frangos de carne com o intuito dessas enzimas degradarem a parede celular da microalga e assim aumentar a absorção dos nutrientes, consequentemente estudar os efeitos desses compostos na performance zootécnica e na qualidade nutricional e avaliação sensorial da carne.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Desempenho zootécnico

##### 3.1.1 Dietas experimentais dos frangos

A primeira etapa realizada foi a formulação de dietas para alimentação dos frangos. Para tal, foi elaborada uma dieta de iniciação e quatro tipos de dietas de crescimento dos frangos, sendo correspondentes aos grupos de formados posteriormente.

Como consta na tabela 6, todas as dietas elaboradas tiveram o milho e a soja como principais componentes. A dieta de iniciação não continha as enzimas (lisozima e Rovabio®) e a microalga *Spirulina*, e foi aplicada do primeiro até o dia 21 de vida de todos os animais.

Posteriormente, a dieta de iniciação foi encerrada, ocorrendo a inserção dos demais tipos de dietas de crescimento a serem testados. No entanto, manteve-se uma dieta controle a fim de comparação, contendo os mesmos ingredientes da dieta de iniciação, porém, em proporções diferentes, de acordo com as necessidades nutricionais dos frangos na nova fase.

As demais dietas utilizadas na fase de crescimento foram classificadas em: dieta com 15% da microalga *Spirulina* (MA); dieta com 15% da microalga *Spirulina* e 0,005 g de Rovabio® (MAR) e dieta com 15% da microalga *Spirulina* e 0,01 g lisozima (MAL).

Tabela 6 - Ingredientes e análise da composição química das dietas experimentais

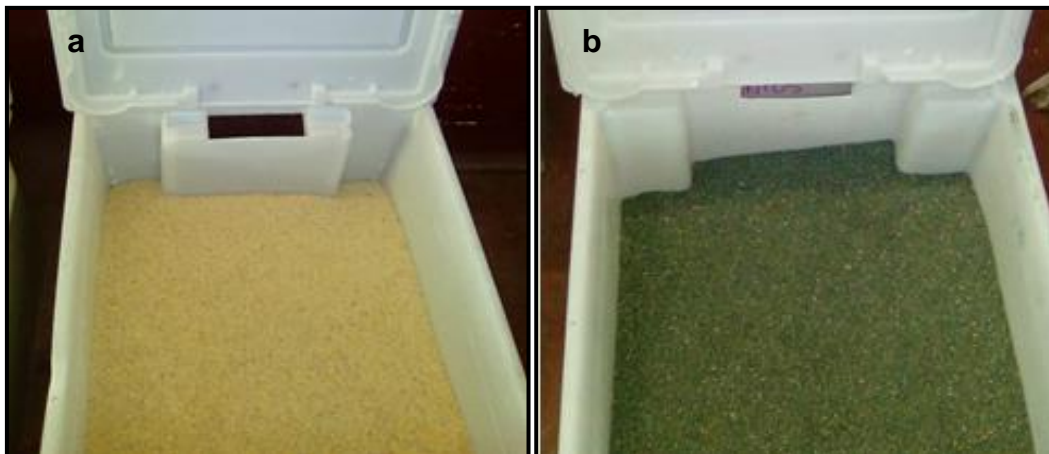
Ingredientes	DIETA DE INICIAÇÃO (dia 1 – 21)	DIETA DE CRESCIMENTO (dia 21 – 35)			
		Controlo	MA	MAR	MAL
Milho (kg)	60,45	64,25	69,00	69,00	69,00
Bagaço soja 47% (kg)	33,50	30,00	11,30	11,30	11,30
Óleo de soja (kg)	1,60	2,10	1,25	1,25	1,25
Carb. Cálcio (kg)	1,23	1,06	1,22	1,22	1,22
Fosfato bicálcico (kg)	1,94	1,44	1,00	1,00	1,00
Metionina sintética (kg)	0,38	0,31	0,23	0,23	0,23
Lisina sintética (kg)	0,25	0,22	0,37	0,37	0,37
Premix* (kg)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Sal (kg)	0,35	0,33	0,33	0,33	0,33
<i>Spirulina</i> (kg)	0	0	15,00	15,00	15,00
Rovabio® (kg)	0	0	0	0,005	0
Lisozima (kg)	0	0	0	0	0,01
TOTAL (kg)	100	100	100	100	100
<b>Composição química estimada</b>					
Energia (kcal/kg)	3050,34	3130,73	3131,64	3131,64	3131,64
Matéria seca (%)	84,02	84,73	85,62	85,62	85,62
Proteína Bruta (%)	21,51	20,04	20,01	20,01	20,01
Lisina disp. (%)	1,22	1,11	1,14	1,14	1,14
Metionina disp.(%)	0,69	0,60	0,62	0,62	0,62
Cálcio (%)	0,96	0,77	0,78	0,78	0,78
Fósforo disp. (%)	0,47	0,38	0,42	0,42	0,42
Sódio (%)	0,16	0,15	0,15	0,15	0,15

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®) e MAL (dieta com *Spirulina* e lisozima).

\*Composição do Premix: Vitaminas A, D3, E, K3, B1, B2, B6 e B12, Patotenato de cálcio, Ácido nicotínico, fólico e cítrico, Biotina, Betaina, Cobre, Ferro, Iodo, Manganês, Selénio, Zinco, Butil-hidroxitolueno (BHT) e Perlite.

Na figura 6 é possível observar a diferença do aspecto visual entre a dieta controlo, conforme figura 6-a, e na figura 6-b as dietas que foram elaboradas com a microalga *Spirulina*, sendo possível observar que mantiveram a coloração inicial da microalga.

Figura 6 - Aspecto visual: (a) dieta controle e (b) dietas com a microalga *Spirulina*



### 3.1.2 Alocação e tratamento dos animais

Para a realização do ensaio utilizou-se 120 frangos machos da estirpe Ross 308. Após a aquisição, estes foram aleatoriamente divididos em quatro grupos, cada um contendo trinta animais, e, posteriormente, submetidos às respectivas dietas previamente elaboradas.

Os quatro grupos de frangos foram divididos em dez gaiolas, cada uma contendo três animais (totalizando 40 gaiolas), sendo esta divisão permante do primeiro dia do ensaio até o dia 35, data de abate dos frangos. Ao final do ensaio, o animal de maior peso de cada gaiola foi abatido, totalizando dez animais de cada grupo e quarenta no total.

As gaiolas que alocaram os animais possuíam 66 centímetros de comprimento por 66 centímetros de altura e 66 centímetros de largura (66 cm x 66 cm x 66 cm). Todas possuíam dois bebedouros de pipeta com água *ad libitum* e um comedouro, e ambos tiveram a altura ajustada conforme o crescimento dos frangos.

A área destinada às gaiolas (figura 7) possuía as dimensões de 10 m de comprimento por 4 m de largura e 4,5 m de altura, dividindo-se com 16 gaiolas na área esquerda, sendo 8 tanto na parte superior, quanto na inferior, e 24 gaiolas na área direita, com 12 na parte superior e inferior. Todas as gaiolas ficaram a uma distância de 0,7 m da parede e havia um ralo central.

Figura 7 - Sala e gaiolas utilizadas para o ensaio dos frangos



Além disso, havia uma lâmpada de aquecimento em cada gaiola que juntamente com o exaustor, permaneceram ligados durante toda a realização do ensaio.

De acordo com as práticas padrões de criação da estirpe, programou-se a temperatura mínima e máxima do exaustor (no intervalo de 20 a 34 °C, variando conforme o estágio de crescimento dos frangos), sendo automaticamente ligado/desligado em função desses valores. A regulação e marcação da temperatura foram realizadas no período da manhã, na chegada ao local e horário de saída, sendo que somente nesse períodos as luzes do ambiente permaneciam acesas.

Em relação à limpeza do local, antes da entrada dos frangos foi realizada uma limpeza com água e desinfecção de toda a sala, gaiolas, comedouros e bebedouros. No período do ensaio, ao menos uma vez na semana retiravam-se as fezes, penas e resíduos de dieta, que eventualmente podiam sair das gaiolas.

Diariamente pesava-se a dieta que seria distribuída nas gaiolas. Na semana inicial, devido ao tamanho dos animais, além da calha convencional, utilizou-se um tabuleiro em cada gaiola para as dietas. A partir da terceira semana, a dieta foi distribuída duas vezes ao dia e, também, regulada com massas diferentes para cada gaiola, de acordo com a variação do consumo, sempre mantendo alimento *ad libitum* a todos os frangos, independente do consumo. Semanalmente os frangos eram pesados, juntamente com o refugo dos comedouros, para observação do ganho de peso em função do tipo da dieta e formulação dos dados zootécnicos.

No dia 35, quarenta animais foram abatidos (dez de cada uma das quatro dietas, sendo 1 por gaiola). Para tanto, foram insensibilizados individualmente através de eletronarcose, seguido de destroncamento do pescoço e, por fim, o sangramento. Posteriormente, foi realizada a recolha do sangue, músculos da coxa (coxa e sobrecoxa) e do peito.

Em seguida, retirou-se o sistema digestivo, iniciando pelo papo, seguindo da moela, duodeno, jejuno, íleo, cecos, pâncreas e fígado. Também retirou-se o conteúdo das porções do intestino delgado e dos cecos. Todos foram pesados (cheios e vazios), realizando a medição do comprimento do duodeno, jejuno, íleo e ceco.

Os conteúdos do duodeno e jejuno juntos e do íleo foram utilizados para determinação da viscosidade. As amostras coletadas foram centrifugadas a uma velocidade de 9000 rpm (rotações por minuto) durante 10 minutos. Após, recolheu-se 1 ml de sobrenadante, realizando a leitura com o viscosímetro (modelo LVDVCP – II Brookfield Engineering laboratories middleboro MA) a 6 rpm acoplado a um banho maria. As amostras foram mantidas a 25 °C durante os processos. Entre todas as repetições o viscosímetro foi limpo com água destilada e seco com papel.

### 3.2 Determinação da cor e pH

Durante o abate retirou-se a coxa direita e o peito do lado direito dos animais. Em seguida, os membros permaneceram armazenados em embalagens no frigorífico no período de 24 horas. Após, realizou-se um corte nas peças, com a finalidade de expor o interior da amostra a temperatura ambiente por uma hora.

Primeiramente, foi realizada a determinação do pH através da utilização do potenciômetro em três pontos distintos de cada membro (coxa e peito). Em seguida, executou-se o teste de determinação da cor por meio de um colorímetro (modelo Konica Minolta CR-300 Chroma Meter W/DP-301 Data Processor), também em três pontos distintos das amostras. Cada ponto gerou um valor para L, a\* e b\*. Os valores foram anotados e organizados por dieta.

### 3.3 Determinação da força de corte e da perda de água por cozimento

Com o intuito de determinar se o tipo de alimentação influenciou na composição da carne, ou se esta composição poderia ser correlacionada com os valores de força de corte, analisaram-se as amostras (1 cm de lado x 1 cm de altura) utilizando o equipamento de análise de textura TA.XT.plus® (Stable Microsystems™, Surrey, UK), munido de uma lâmina do tipo Warner-Bratzler.

Para tal, uma parcela das amostras (coxa e peito) foi destinada para a análise de força de corte e, também, para análise de perda de água livre. Em ambas análises seguiu-se a metodologia aplicada por Zhang *et al.* (2012), Sun *et al.* (2017) e Jaturasitha *et al.* (2008). Primeiramente, pesou-se as amostras em balança analítica, em seguida, foram embaladas individualmente, como segue na figura 8, e colocadas em banho-maria (figura 9) previamente a 80 °C, até que atingissem temperatura interna de 78 °C, para isso foi utilizado um termômetro, como representado na figura 10.

Figura 8 – Amostras embaladas individualmente para cozedura



Figura 9 - Banho-maria utilizado para cozedura das amostras



Figura 10 - Termómetro utilizado para medição da temperatura interna das amostras e da água



Assim que as amostras atingiram a temperatura esperada na cozedura, foram retiradas do banho-maria e reservadas em temperatura ambiente no período de duas horas para que ocorresse a diminuição da temperatura interna (figura 11).

Figura 11 – Amostras após o processo de cozedura



Após, foi realizada a limpeza das mesmas utilizando um papel para retirada da água acumulada durante a cozedura, ocorrendo uma segunda pesagem para determinação da perda de água. Em seguida, foram realizados cortes (1 cm de largura x 1 cm de altura), como na figura 12, e posicionadas no aparelho para determinar da força de corte.

Figura 12 - Cortes realizados nas amostras após o cozimento para determinação da força de corte



### 3.4 Análise sensorial

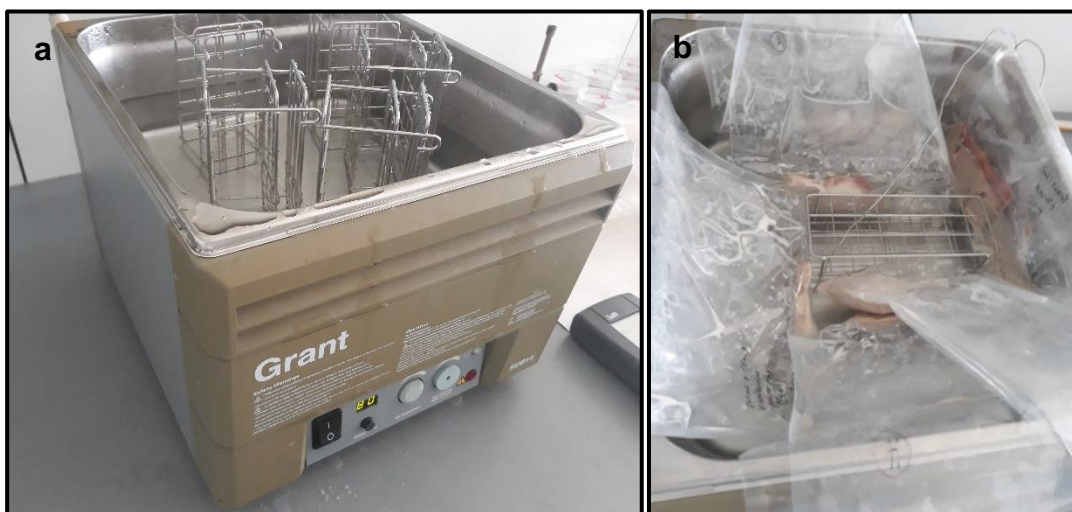
Para a análise sensorial das amostras foi necessário o treinamento de um grupo com doze painelistas, sem o fornecimento de informações particulares do teste. As análises foram realizadas em cinco seções, utilizando-se somente o músculo da região do peito dos frangos.

As amostras foram selecionadas aleatoriamente, embaladas individualmente (figura 13) e aquecidas em banho-maria a 84 °C até atingirem a temperatura interna de 80 °C (figura 14).

Figura 13 - Amostras embaladas individualmente pré cozedura



Figura 14 – Banho utilizado na análise sensorial (a) e banho com as amostras (b)



Após a cozedura, as amostras foram limpas para retirar o sangue e a água livres que se juntam em grumos em torno da carne e podem alterar os resultados do painel sensorial como suculência e flavor (figura 15).

Figura 15 – Amostra após a cozedura



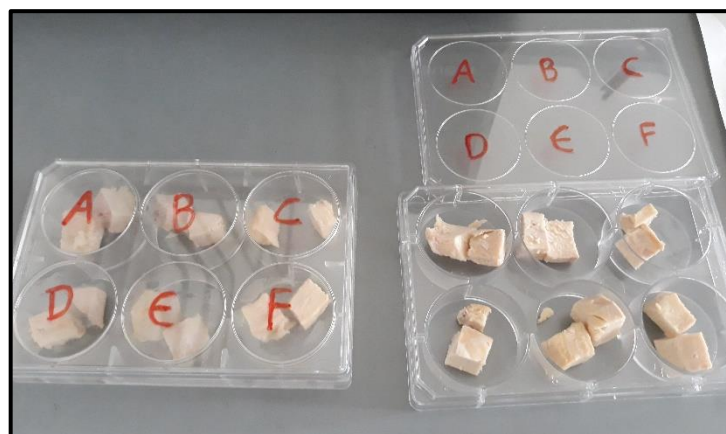
Em seguida, as amostras foram cortadas em cubos de 1 cm e armazenadas em placas de petri a fim de manter as características das carnes até a chegada dos provadores (figura 16), depois as amostras foram distribuídas em placas de 6 poços

com 2 cubos de cada amostra (figura 17) e entregues aos painelistas para avaliação da tenrura, suculência, flavor, off-flavor e apreciação global (Zhuang & Savage, 2011, Zhuang et al., 2009).

Figura 16 - Amostras em cubos nas placas de petri



Figura 17 - Amostras nas placas de 6 poços prontas para serem entregues aos painelistas.



### 3.5 Análise estatística

Para os valores da ingestão alimentar e índice de conversão alimentar foi usado como unidade experimental a gaiola (n=40). Para a análise do peso vivo individual e ganho médio diário foi usado como unidade experimental o animal (n=120). Para os valores dos órgãos do sistema digestivo, medição da viscosidade, medição do pH e

cor, análise da força de corte e perda de água e para a análise sensorial usou-se como unidade experimental um animal por gaiola (n=40). Os dados recolhidos foram submetidos a análise de variância e comparados utilizando o procedimento GLM (General Linear Model) do SAS (Statistical Analysis Software) (SAS 2012). As médias de valores F significativos ( $P < 0,05$ ) foram comparadas com o teste PDIFF ajustado a Tukey e o teste de homogeneidade de variância ao Levene's Test/ Welch's ANOVA (SAS, 2012).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Análise das dietas

Após o fabrico das dietas destinadas aos frangos, foi realizada a análise química das mesmas, cujos resultados se apresentam na tabela 7.

Tabela 7 - Análise química das dietas (valores em %)

	<b>Controlo</b>	<b>MA</b>	<b>MAR</b>	<b>MAL</b>
<b>Matéria Seca</b>	88,7	89,2	89,3	89,3
<b>Água</b>	11,3	10,8	10,7	10,7
<b>Cinzas</b>	5,0	4,9	4,8	4,8
<b>Matéria Orgânica</b>	83,7	84,3	84,5	84,5
<b>Proteína Bruta</b>	18,2	18,8	18,8	18,8
<b>Gordura Bruta</b>	5,4	5,4	5,4	5,4

MS (matéria seca), MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®) e MAL (dieta com *Spirulina* e lisozima).

Esses dados mostram uma semelhança entre as dietas, como era esperado quando realizamos a formulação destas, que não houvesse uma diferença nutricional entre elas.

### 4.2 Efeito da dieta no desempenho zootécnico

Os dados zootécnicos foram obtidos ao longo do ensaio, através do registro das pesagens dos animais, com a finalidade de observar os efeitos de cada tipo de dieta utilizada no ganho de peso, dessa forma, os dados foram separados semanalmente

Tabela 8 - Valores do peso (g) dos frangos em função das dietas

	Controlo	MA	MAR	MAL	SEM	P-value
Dia 01	41,40	41,83	41,23	41,33	0,265	0,406
Dia 07	125,83	128,60	127,07	128,33	3,457	0,938
Dia 14	334,30	353,00	372,37	341,47	14,611	0,292
Dia 21	722,80	741,93	786,83	727,67	24,769	0,263
Dia 28	1244,43	1198,07	1224,90	1136,93	32,301	0,118
Dia 35	1802,43 <sup>b</sup>	1697,50 <sup>ab</sup>	1717,00 <sup>ab</sup>	1613,07 <sup>a</sup>	39,158	0,016

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®), MAL (dieta com *Spirulina* e lisozima), SEM (Standard error of mean), ab Significa que dentro da mesma linha, a é diferente de b ( $P < 0,05$ ).

Os resultados mostram que, comparando os tipos de dietas aplicadas, não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre os valores resultantes dos pesos dos animais até o dia 28 (4 semanas de ensaio, 1 semana de tratamento). Apenas constatou-se uma diferença no dia 35 (relativo a última semana de ensaio e segunda semana com as dietas contendo microalga), em que os frangos submetidos à dieta MAL (dieta com *Spirulina* e lisozima) apresentaram valores inferiores aos alcançados na dieta Controlo ( $P < 0,05$ ). A figura 18 compara o animal no dia 1 do ensaio e no dia 35.

Figura 18 - Comparativo de um animal: (a) dia 1 e (b) dia 35 do ensaio



Em relação à quantidade de alimento consumido no decorrer do ensaio, os valores semanais e totais de cada tipo de dieta estão expressos na tabela 9. Os dados mostram que, de acordo com a análise estatística, não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) quando teve a troca das dietas, da inicial para a de crescimento, não variando a quantidade de alimento consumido no decorrer dos dias

Tabela 9 - Efeito do regime na ingestão diária (valores em g)

	<b>Controlo</b>	<b>MA</b>	<b>MAR</b>	<b>MAL</b>	<b>SEM</b>	<b>P-value</b>
Dia 01 – 07	38,44	40,61	34,74	39,34	2,020	0,215
Dia 08 – 14	42,38	41,11	43,19	43,64	1,501	0,655
Dia 15 – 21	77,35	76,19	77,16	77,92	2,103	0,943
Dia 22 – 28	107,42	104,63	107,08	97,90	3,091	0,126
Dia 29 – 35	140,56	137,63	137,63	132,01	3,332	0,342
Dia 22 – 35	123,99	121,13	122,36	114,96	3,054	0,191
Dia 01 – 35	81,23	80,02	79,96	78,17	1,498	0,552

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®), MAL (dieta com *Spirulina* e Lisoзима), SEM (Standard error of mean).

Durante o ensaio, pôde-se observar alguma resistência dos frangos quanto à alimentação assim que ocorreu a mudança da dieta de iniciação para àquelas que continham a *Spirulina*. Além disso, também notou-se uma diminuição imediata no peso de alguns animais após 24 h da troca da dieta, no entanto, posteriores 48 h ocorreu estabilização dos valores.

Em relação aos efeitos das dietas no ganho de peso médio diário dos frangos (tabela 10), pode-se observar que houve uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) assim que foi realizada a mudança das dietas, a partir do dia 21, com a introdução da microalga.

Tabela 10 - Efeito das dietas no ganho médio diário (valores em g)

	Controlo	MA	MAR	MAL	SEM	P-value
Dia 01 – 07	12,06	12,40	12,26	12,43	0,498	0,952
Dia 08 – 14	29,78	32,06	35,04	30,45	1,727	0,157
Dia 15 – 21	55,50	55,56	59,21	55,17	1,773	0,340
Dia 22 – 28	74,52 <sup>b</sup>	65,16 <sup>a</sup>	62,58 <sup>a</sup>	58,47 <sup>a</sup>	1,834	< 0,001
Dia 29 – 35	93,00 <sup>b</sup>	83,24 <sup>a</sup>	82,02 <sup>a</sup>	79,3 <sup>a</sup>	2,254	< 0,001
Dia 22 – 35	83,76 <sup>b</sup>	74,20 <sup>a</sup>	72,29 <sup>a</sup>	68,91 <sup>a</sup>	1,769	< 0,001
Dia 01 – 35	50,32 <sup>b</sup>	47,30 <sup>ab</sup>	47,88 <sup>ab</sup>	44,91 <sup>a</sup>	1,121	0,016

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®), MAL (dieta com *Spirulina* e Lisoзима), SEM (Standard error of mean), ab Significa que dentro da mesma linha, a é diferente de b (P<0,05).

Na quarta semana de ensaio (dia 22 - 28), os animais que receberam a dieta Controlo apresentaram um ganho de peso médio diário superior aos das dietas contendo *Spirulina* (P<0,05). Essa diferença entre a dieta Controlo e as demais dietas (P<0,05) se manteve durante toda a utilização da microalga (dia 22 – 35), mas ao analisarmos o ensaio total (dia 1 – 35), a dieta MAL foi a única que ficou com valores abaixo dos da dieta Controlo (P<0,05).

O índice de conversão também foi calculado, significando a quantidade necessária de g de alimento para se obter 1 g de peso vivo. Os dados referentes às influências das dietas no índice de conversão alimentar estão presentes na tabela 11. Na primeira semana da troca da dieta de iniciação para a dieta de crescimento (dia 22 – 28) o valor obtido do índice de conversão da dieta MAR permaneceu acima da dieta Controlo e da dieta MA (P<0,05) e a dieta MAL ficou com valores acima dos da dieta Controlo.

Tabela 11 - Efeitos dos tipos de dietas no índice de conversão alimentar (IC) (g/g)

	Controlo	MA	MAR	MAL	SEM	P-value
Dia 01 – 07	3,21	3,30	2,88	3,23	0,202	0,459
Dia 08 – 14	1,45	1,30	1,24	1,47	0,067	0,049
Dia 15 – 21	1,40	1,38	1,30	1,43	0,044	0,219
Dia 22 – 28	1,44 <sup>a</sup>	1,60 <sup>b</sup>	1,71 <sup>c</sup>	1,68 <sup>bc</sup>	0,022	< 0,001
Dia 29 – 35	1,51 <sup>a</sup>	1,66 <sup>b</sup>	1,68 <sup>b</sup>	1,67 <sup>b</sup>	0,021	< 0,001
Dia 22 – 35	1,48 <sup>a</sup>	1,63 <sup>b</sup>	1,70 <sup>b</sup>	1,67 <sup>b</sup>	0,017	< 0,001
Dia 01 – 35	1,54 <sup>a</sup>	1,61 <sup>ab</sup>	1,58 <sup>ab</sup>	1,67 <sup>b</sup>	0,023	0,003

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®), MAL (dieta com *Spirulina* e Lisoзима), SEM (Standard error of mean), abc Significa que dentro da mesma linha, a é diferente de b que é diferente de c (P<0,05).

Já na quinta semana da dieta de crescimento (dia 29 – 35), quanto na média das semanas em que utilizou-se as dietas de crescimento (dia 22 – 35) o valor do índice de conversão da dieta Controlo mostrou-se abaixo das dietas com microalga (P <0,05). No valor do ensaio completo (dia 1 – 35) foi possível notar que a dieta MAL obteve maior valor do que a dieta controlo.

O valores obtidos do índice de conversão (IC) da primeira semana, no entanto, estão acima dos valores descritos na bibliografia (Ross Broiler-Management Handbook, 2014). Este facto pode dever-se ao desperdício não contabilizado dos animais devido à utilização de tabuleiros dentro das gaiolas para colocação do alimento até o primeiro contato com as calhas.

#### 4.3 Influência da dieta no peso e comprimento de alguns órgãos do sistema digestório

No final do ensaio (dia 35), o animal de maior peso de cada gaiola foi abatido e, em seguida, foram separados os órgãos do sistema digestório para pesagem e análise do comprimento. Esses valores podem ser observados na tabela 12, enquanto, na tabela 13, encontram-se os dados referentes à viscosidade dos conteúdos do duodeno, jejuno e íleo.

Tabela 12 - Efeito dos regimes no peso relativo (g/kg de peso vivo) e no comprimento (cm/kg de peso vivo) de vários órgãos do sistema digestório

Órgão	Controlo	MA	MAR	MAL	SEM	P-value
Papo (g/kg)	2,62	2,91	2,98	2,53	0,221	0,418
Moela (g/kg)	12,22	14,34	13,12	14,20	0,606	0,061
Pâncreas (g/kg)	2,30	2,38	2,25	2,37	0,126	0,870
Fígado (g/kg)	21,85	23,71	22,44	23,53	0,905	0,422
Duodeno (g/kg)	4,77	5,06	5,33	4,82	0,223	0,283
Comprimento (cm/kg)	13,11 <sup>a</sup>	15,66 <sup>b</sup>	15,45 <sup>b</sup>	14,77 <sup>b</sup>	0,523	0,006
Jejuno (g/kg)	9,45	9,57	9,26	9,03	0,354	0,722
Comprimento (cm/kg)	33,62 <sup>a</sup>	37,83 <sup>b</sup>	36,96 <sup>ab</sup>	37,75 <sup>ab</sup>	1,105	0,034
Íleo (g/kg)	8,29 <sup>ab</sup>	8,19 <sup>ab</sup>	7,39 <sup>a</sup>	8,52 <sup>b</sup>	0,281	0,042
Comprimento (cm/kg)	37,20	38,75	38,77	40,67	1,150	0,224
Ceco* (g/kg)	3,74	3,79	4,68	3,63	0,361	0,164
Comprimento* (cm/kg)	8,08	8,44	8,12	8,02	0,329	0,812

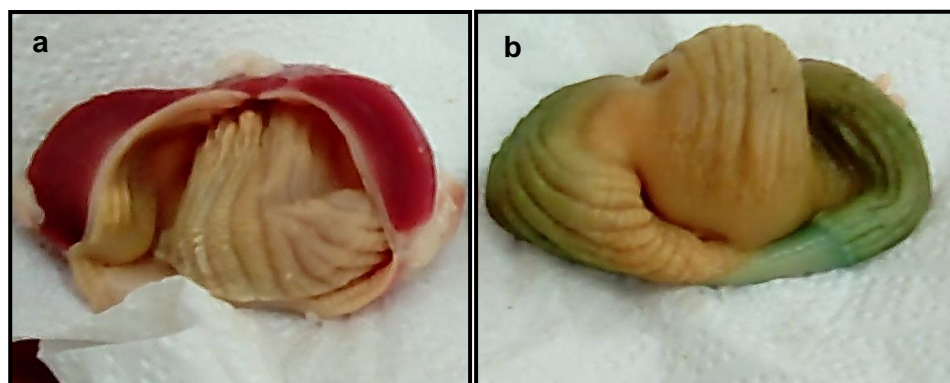
\*Peso dos dois cecos, comprimento de um ceco.

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®) e MAL (dieta com *Spirulina* e lisozima), SEM (Standard error of mean), ab significa que dentro da mesma linha, a é diferente de b (P<0,05).

Em relação à tabela 12, observou-se um aumento no comprimento do duodeno dos animais que receberam as dietas enriquecidas com *Spirulina*, comparado ao controlo. Ocorreu, também, um aumento no comprimento do jejuno nos frangos da dieta MA, em relação aos da dieta controlo. Aqueles que se alimentaram com a dieta MAL desenvolveram o íleo com maior massa, em comparação aos animais da dieta que continha o Rovabio® (MAR).

Após a realização do abate foi observado uma diferença na coloração interna das moelas dos animais que receberam as dietas contendo *Spirulina*, como representado na figura 19, onde em (a) a moela dos animais controlo apresenta uma coloração avermelhada, enquanto em (b) os animais alimentados com *Spirulina* desenvolveram uma coloração verde na moela, característica da microalga.

Figura 19 - Moela de animal da dieta: (a) controlo e moela de animal da (b) dieta com *Spirulina*



Em relação à viscosidade analisada no duodeno e no jejuno, observou-se que os frangos referentes à dieta com *Spirulina* e lisoizima (MAL) apresentaram teores superiores sobre o controlo ( $P < 0,05$ ).

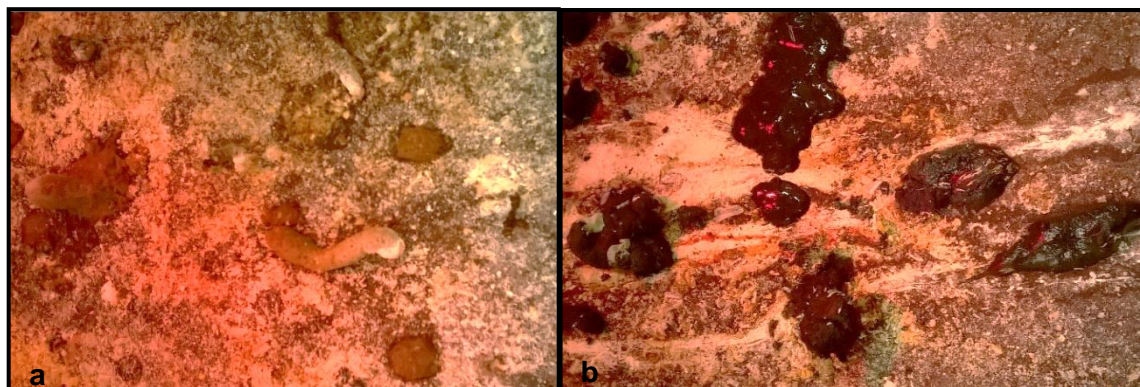
Tabela 13 - Efeito dos regimes na viscosidade dos conteúdos do duodeno, jejuno e íleo (Centipoise cP)

	Controlo	MA	MAR	MAL	SEM	P-value
<b>Duodeno + jejuno</b>	4,84 <sup>a</sup>	7,08 <sup>ab</sup>	7,32 <sup>ab</sup>	9,20 <sup>b</sup>	1,071	0,039
<b>Íleo</b>	9,19	10,79	11,76	10,86	0,962	0,306

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®) e MAL (dieta com *Spirulina* e lisoizima), SEM (Standard error of mean), ab Significa que dentro da mesma linha, a é diferente de b ( $P < 0,05$ ).

Durante o ensaio verificou-se uma diferença acentuada na coloração das fezes dos animais que ingeriram a dieta com *Spirulina* em relação aos animais que ingeriram a dieta controlo, como segue na figura 20, onde em (a) as fezes originadas da dieta controlo são mais claras, enquanto em (b), dietas com *Spirulina*, apresentam-se mais escuras e com uma tonalidade verde-escura, provavelmente devido aos pigmentos presentes na microalga.

Figura 20 – Comparação das fezes dos animais: (a) dieta controle e (b) dietas contendo *Spirulina*



#### 4.4 Influência da dieta no pH e na cor da carne

As análises de cor e do pH foram realizadas nos músculos da coxa e do peito (figura 21) das aves, gerando três variáveis para cada análise, como consta na tabela 14. Para o pH foi realizada uma média de acordo com as dietas, enquanto para a cor utilizou-se uma média de acordo com seus parâmetros: L (branco – preto),  $a^*$  (vermelho – verde) e  $b^*$  (amarelo – azul).

Figura 21 – Amostra do músculo do peito das aves: (a) dieta controle e (b) dietas contendo *Spirulina*

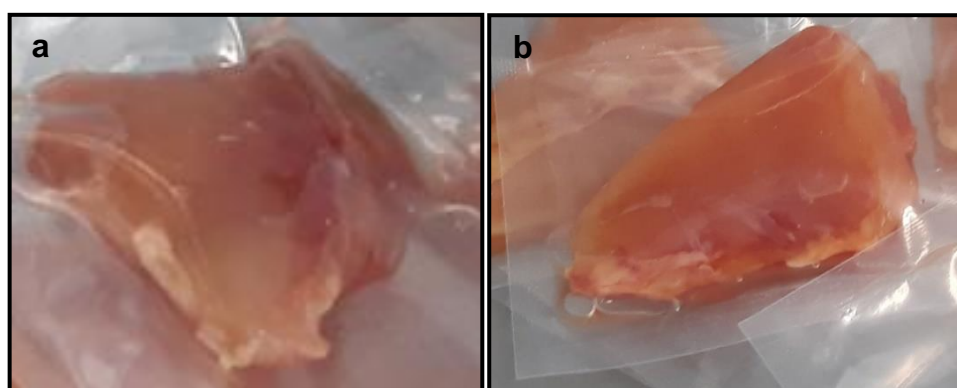


Tabela 14 - Valores de pH e cor no peito e na coxa

	Controlo	MA	MAR	MAL	SEM	P-value
Peito						
pH	5,79	5,77	5,82	5,70	0,060	0,559
L	49,21	46,58	47,56	46,91	0,837	0,139
a*	4,53	5,31	5,50	5,37	0,288	0,089
b*	4,38 <sup>a</sup>	10,75 <sup>b</sup>	11,74 <sup>b</sup>	12,30 <sup>b</sup>	0,546	<0,001
Coxa						
pH	5,83	5,84	5,87	5,77	0,060	0,739
L	49,17	48,90	48,03	47,45	0,471	0,051
a*	8,25 <sup>a</sup>	9,49 <sup>ab</sup>	9,91 <sup>b</sup>	9,67 <sup>ab</sup>	0,430	0,046
b*	5,38 <sup>a</sup>	12,87 <sup>b</sup>	12,39 <sup>b</sup>	13,51 <sup>b</sup>	0,459	<0,001

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®), MAL (dieta com *Spirulina* e Lisoзима), SEM (Standard error of mean), L (luminosidade), a\* (intensidade de vermelho) e b\* (intensidade de amarelo), ab Significa que dentro da mesma linha, a é diferente de b (P<0,05).

Quanto ao teste de pH, não verificou-se diferenças nas amostras, tanto na coxa, quanto no peito. Já os dados da cor mostraram-se superiores no parâmetro b\* nas dietas contendo *Spirulina*, no peito e na coxa. Somente na coxa foi observado um aumento no parâmetro a\* na dieta contendo *Spirulina* e Rovabio® (MAR), em relação a dieta Controlo.

Não foi possível a realização de um inquérito com consumidores sobre a diferença da cor da carne, mas a mudança da coloração de pálido para alaranjado pode ou não atrair mais a atenção do consumidor.

#### 4.5 Efeito da dieta na força de corte e na perda de água por cozimento

O teste de perda de água por cozimento dos músculos do peito e coxa das aves foi realizado antes do teste de força de corte. Os valores da perda de água foram determinados em percentagem do peso final das amostras após o processo de cozimento. A força de corte foi determinada em força de Newton (N) necessários para partir a amostra, como consta na tabela 15.

Tabela 15 - Valores da força de corte (N) e da perda de água (%) nos músculos do peito e coxa

	Controlo	MA	MAR	MAL	SEM	P-value
<b>Perda de água</b>						
Peito (%)	14,7	12,6	13,7	12,8	1,049	0,501
Coxa (%)	17,8	18,3	17,3	19,0	1,023	0,657
<b>Força de corte</b>						
Peito (N)	16,0	15,0	15,8	16,3	1,323	0,909
Coxa (N)	21,7	22,1	22,2	19,9	1,113	0,444

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®) e MAL (dieta com *Spirulina* e Lisoзима), SEM (Standard error of mean).

Os dados obtidos das análises de força de corte e perda de água por cozimento não apresentaram diferenças estatísticas ( $P>0,05$ ) entre o controlo e as amostras com a microalga e enzimas.

#### 4.6 Efeito da dieta na análise sensorial

Foram utilizados os dados obtidos através do painel sensorial para fazer uma média de acordo com os parâmetros e as dietas, como consta na tabela 16.

Tabela 16 - Análise sensorial do músculo do peito

	Controlo	MA	MAR	MAL	SEM	P-value
Tenrura	5,379	5,238	5,691	5,238	0,155	0,130
Suculência	4,504 <sup>b</sup>	4,004 <sup>a</sup>	4,277 <sup>ab</sup>	3,956 <sup>a</sup>	0,134	0,012
Flavor	4,523	4,401	4,561	4,156	0,124	0,088
Off-flavor	0,650	0,480	0,291	0,348	0,105	0,077
Apreciação global	5,006	4,836	5,157	4,733	0,126	0,087

MA (dieta com *Spirulina*), MAR (dieta com *Spirulina* e Rovabio®) e MAL (dieta com *Spirulina* e Lisoзима), SEM (Standard error of mean), ab Significa que dentro da mesma linha, a é diferente de b ( $P<0,05$ ).

Na análise sensorial só foi observado diferenças na suculência com os valores das dietas MA e MAL abaixo dos valores da dieta controle.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Efeito da dieta no desempenho zootécnico

De acordo com os valores do peso dos frangos em função das dietas, houve apenas diferenças na última semana, com o valor da dieta contendo 15% de *Spirulina* e lisoizima (MAL) abaixo do valor da dieta controle, esse fato pode ter ligação com o aumento da viscosidade, que é provocado pela presença da microalga e possivelmente aumentado com o presença da lisoizima, que provocam uma gelificação do alimento, diminuindo a absorção nutricional (Evans *et al.*, 2015, Ross & Dominy 1990, Venkataraman *et al.*, 1994, Toyomizu *et al.*, 2001, Bonos *et al.*, 2016, Gongnet *et al.*, 2001, Mirzaie *et al.*, 2018, Qureshi *et al.*, 1996, Shanmugapriya & Babu 2014, Mariey *et al.*, 2012).

Em relação á ingestão diária, não houve diferenças durante o ensaio, mesmo com a troca da alimentação no dia 21 onde houve a inserção das dietas contendo a microalga *Spirulina*. Mas é importante resaltar que durante a troca das dietas, foi observado uma resistência dos animais com o primeiro contato com a *Spirulina*, na maioria dos casos devido ao odor e a textura do alimento. Essa resistência provocou uma diminuição do peso de alguns animais 24h após o primeiro contato, mas 48h após a inserção destas novas dietas, o peso e o consumo voltaram ao normal. Também foi observado um empastamento das dietas contendo *Spirulina*, em torno dos bicos dos animais, esse fato deve-se á presença da microalga que muda a textura do alimento.

O ganho médio diário mostrou diferenças a partir da troca das dietas, mostrando os valores das dietas contendo *Spirulina* abaixo da dieta controle, isso mostra que a presença da microalga afetou o ganho dos animais provavelmente devido a gelificação dos alimentos causados pela presença da *Spirulina*. Já no resultado da média do ensaio inteiro (dia 1 – 35) os resultados ficaram semelhantes aos do peso, com o valor da dieta contendo 15% de *Spirulina* e lisoizima (MAL) abaixo do valor da dieta controle, o que resalta a suposição que a junção da microalga com a lisoizima afeta significativamente o peso dos frangos para um aspecto negativo (Evans *et al.*, 2015, Ross & Dominy 1990, Venkataraman *et al.*, 1994, Toyomizu *et al.*, 2001, Bonos *et al.*, 2016, Gongnet *et al.*, 2001, Mirzaie *et al.*, 2018, Qureshi *et al.*, 1996, Shanmugapriya & Babu 2014, Mariey *et al.*, 2012).

No índice de conversão os dados ficaram semelhantes aos do ganho médio diário. Após a troca dos alimentos, os animais com as dietas contendo *Spirulina* tiveram um aumento, mostrando que precisaram de mais alimento para ganhar o mesmo peso que os da dieta controle, o que confirma que a presença da *Spirulina* pode diminuir a absorção dos nutrientes, dificultando o ganho de massa dos frangos. No resultado da média do ensaio inteiro (dia 1 – 35), a dieta contendo 15% de *Spirulina* e lisozima (MAL) ficou com um valor acima da dieta controle, mostrando novamente que a junção da microalga com essa enzima dificultaram muito o ganho dos animais, provavelmente devido a gelificação provocada por estes nos alimentos, dificultando a absorção nutricional (Evans *et al.*, 2015, Ross & Dominy 1990, Venkataraman *et al.*, 1994, Toyomizu *et al.*, 2001, Bonos *et al.*, 2016, Gongnet *et al.*, 2001, Mirzaie *et al.*, 2018, Qureshi *et al.*, 1996, Shanmugapriya & Babu 2014, Mariey *et al.*, 2012).

Em um estudo realizado por Ross & Dominy (1990), foram realizados 2 experimentos. No primeiro foram utilizados pintos machos White Leghorn desde o primeiro dia de vida, durante 3 semanas (21 dias), utilizando dietas com 0, 5, 10, 15 e 20% de *Spirulina*, essas dietas eram a base de milho e a microalga substituiu uma parte da soja. Seus resultados mostraram que a performance dos frangos que ingeriram a dieta contendo 20% de *Spirulina* foi muito afetada negativamente em relação a todas as dietas ( $P < 0,05$ ), a dieta contendo 10% de *Spirulina* ficou com a performance abaixo da dieta controle, mas os animais da dieta com 15% de *Spirulina* não tiveram sua performance modificada em relação as outras dietas. O valor de ingestão das dietas não teve diferença entre as dietas ( $P < 0,05$ ). O segundo estudo foi realizado com pintos machos Hubbard do primeiro dia ao dia 41 de vida, utilizando dietas contendo 0, 1,5, 3, 6 e 12% de *Spirulina*, essas dietas também eram a base de milho e a microalga substituiu uma parte da soja. O resultado desse ensaio mostrou que a performance dos frangos só foi alterada na dieta contendo 12% de *Spirulina* em relação as outras dietas contendo a microalga, mas foi igual ao da dieta controle. Em relação ao presente trabalho, os valores da performance afetada negativamente em dietas contendo mais de 10% de *Spirulina* corrobora com o nosso ensaio, exceto a dieta contendo 15% de *Spirulina* que não teve alteração na performance, mas devido ao fato do ensaio ter durado somente 3 semanas e ser em animais mais jovens do que o nosso ensaio, isso não pode afirmar que em um ensaio de maior duração essa quantidade de *Spirulina* produzirá o mesmo efeito. O valor da ingestão das dietas não

sofreu alteração, o que condiz com os resultados obtidos no nosso ensaio.

No estudo realizado por Venkataraman *et al.*, (1994) foram utilizados pintos Rani Shaver do desde o primeiro dia de vida por 12 semanas. Foram utilizadas 3 dietas a base de milho, uma controlo, uma contendo 14% de *Spirulina* que substituiu a farinha de peixe e uma contendo 17% de *Spirulina* que substituiu a farinha de amendoim. Foi constatado que os animais que ingeriram a dieta contendo 17% de *Spirulina* tiveram sua performance superior aos da dieta controlo e da dieta contendo 14% de *Spirulina* ( $P < 0,05$ ), essa diferença foi relatada desde a semana 4 e persistiu até a última semana do ensaio. Por ser um ensaio mais longo e por usar a *Spirulina* como um substituto de 100% de um ingrediente, pode-se supor que a presença da farinha de amendoim na dieta não foi vantajoso para os animais, mas por outro lado pode-se afirmar que dependendo dos ingredientes utilizados na formulação da dieta, a *Spirulina* pode servir muito bem como substituto de algum ingrediente, que comparado e a microalga, não seja tão eficaz na performance dos animais.

Toyomizu *et al.*, (2001) realizaram um ensaio com pintos machos Arbor Acres que foram alimentados com dieta comercial do dia 1 ao dia 21 de vida, após esse dia foram separados em 3 grupos e utilizadas dietas a base de milho durante 16 dias, essas dietas eram divididas em dieta controlo, dieta contendo 4% de *Spirulina* e dieta contendo 8% de *Spirulina*, ambas dietas com microalga foi substituído uma parte da soja. Não houve nenhuma alteração na performance dos animais ( $P < 0,05$ ). Pode-se supor que a *Spirulina*, em quantidades abaixo de 10%, não irá trazer mudanças na qualidade da performance dos animais. Como o nosso ensaio utilizou 15% de *Spirulina*, talvez a utilização de uma quantidade inferior, mesmo com a utilização das enzimas lisozima e Rovabio®, pode ter resultados viáveis, mas para isso são necessários mais estudos.

O experimento de Bonos *et al.*, (2016) foi realizado com pintos mistos durante 42 dias e foram usadas 3 dietas diferentes para cada fase (fase 1 – dia 1 ao dia 14; fase 2 – dia 15 ao dia 28; fase 3 – dia 29 ao dia 42), todas as dietas eram a base de milho e soja. Em cada fase uma das dietas não foi alterada (dieta controlo), uma recebeu 0,5% de *Spirulina* e outra recebeu 1% de *Spirulina*. Não foi observado nenhuma alteração na performance dos animais ( $P > 0,05$ ), mas a carne apresentou um maior perfil de ácido graxos poli-insaturados. Como esse trabalho utilizou percentagens muito baixas de *Spirulina* (valor menor que 10%), isso pode justificar a

não alteração da performance dos animais. Igualmente Toyomizu *et al.*, (2001), esses trabalhos utilizaram uma percentagem de *Spirulina* inferior ao nosso ensaio, novamente, talvez a utilização de uma percentagem menor não afete tanto os animais.

Gongnet *et al.* (2001) utilizaram pintos machos Ross a partir de 6 dias de vida durante 4 semanas. Esses animais foram alimentados com 4 dietas a base de soja e milho, a dieta controlo e as dietas contendo 5, 10 ou 15% de *Spirulina*, sendo que a microalga substituiu parte da soja. Os resultados mostraram que a dieta contendo 15% de *Spirulina* teve um valor inferior na ingestão diária em relação a dieta controlo ( $P<0,05$ ), sobre o ganho de peso, as dietas contendo 10 e 15% de *Spirulina* tiveram valores inferiores aos da dieta com 5% de *Spirulina* e aos da dieta controlo ( $P<0,05$ ), já no índice de conversão, o valor da dieta com 15% de *Spirulina* ficou acima de todas as dietas ( $P<0,05$ ) e a dieta contendo 10% de *Spirulina* ficou acima somente da dieta contendo 5% de *Spirulina* ( $P<0,05$ ). Esse trabalho mostra que a alteração da dieta durante o ensaio pode afetar negativamente o valor da ingestão em quantidades acima de 10% de *Spirulina*, mas esse fator não foi observado no nosso ensaio, talvez a idade dos animais tenha influenciado essa diferença. As dietas contendo 10 e 15% de *Spirulina* diminuíram a performance dos animais, mostrando que quantidades iguais ou superiores a 10% tem um impacto negativo nas qualidades dos frangos, como foi visto no nosso trabalho, com a *Spirulina* a 15% diminuindo a performance dos frangos.

Recentemente, Mirzaie *et al.* (2018) avaliaram a variação da concentração de *Spirulina* (0,5, 1 e 2%) aplicada em uma dieta a base de milho substituindo parte da soja, foram utilizados 250 frangos Cobb 500 mistos do dia 17 ao dia 44 de vida. Nessa pesquisa observaram que a microalga diminuiu o hormônio de estresse, melhorando a resposta imunitária, em relação a performance dos animais, só foram observadas diferenças na última semana (dia 38 – 44) com o peso dos animais da dieta controlo acima dos das dietas contendo 0,5 e 1% de *Spirulina* ( $P<0,05$ ), a ingestão da dieta com 1% de *Spirulina* foi menor que a da dieta com 2% de *Spirulina* ( $P<0,05$ ) e dieta controlo mostrou um menor índice de conversão que as dietas contendo 0,5 e 2% ( $P<0,05$ ). Esses resultados vão contra os demais apresentados, mostrando que a utilização da *Spirulina* mesmo em quantidades pequenas (<10%) podem afetar negativamente a performance dos frangos.

Qureshi *et al.*, (1996) realizaram dois ensaios, o primeiro foi com pintos mistos

Cornell K-White Leghorn e 4 dietas a base de milho e soja, uma controle e 3 com microalga em porcentagens de 0,01, 0,1 e 1% desde o dia 1 durante 7 semanas. O segundo foi realizado com pintos mistos Arbor Acres Leghorn e 4 dietas a base de milho e soja, uma controle e 3 com microalga em porcentagens de 0,01, 0,1 e 1%, desde o dia 1 durante 3 semanas. Em nenhum dos estudos foi detectado qualquer alteração na performance dos animais ( $P>0,05$ ). O que pode justificar essa não alteração dos dados das performances, é a utilização muito baixa da *Spirulina* ( $<1\%$ ).

Shanmugapriya & Babu (2014) conduziram uma pesquisa sobre os efeitos da suplementação de *Spirulina* (0,5, 1 e 1,5%) em pintos Ross machos com um dia de vida, durante 36 dias. As dietas eram a base de milho e soja e, ao final do ensaio, notaram que as dietas com 1 e 0,5% de microalga, aumentaram significativamente o peso corporal dos animais em comparação ao controle e a dieta com 1,5% de *Spirulina* ( $P<0,05$ ), a ingestão da dieta sofreu alterações ao final dos 36 dias com o valor da dieta controle acima das demais ( $P<0,05$ ) e o índice de conversão mostrou que a dieta com 1,5% de *Spirulina* teve o pior resultado ( $P<0,05$ ). De acordo com esses resultados, pode-se supor que a quantidade de 1,5% de *Spirulina* já pode diminuir o rendimento da performance dos animais, mas as quantidades abaixo de 1% podem trazer benefícios.

Num estudo realizado por Mariey et al. (2012), avaliou-se o desempenho das poedeiras Sinai e Gimmizah entre 28 e 52 semanas de vida com dietas a base de milho e soja utilizando 0,1, 0,15 e 0,2% de *Spirulina*. Seus dados mostraram que somente o ganho de peso foi alterado, mostrando o valor da dieta controle abaixo do da dieta com 0,2% de *Spirulina* ( $P<0,05$ ). Os animais utilizados são mais velhos e fora do usual para uma produção, porém, pode-se observar no ganho de peso um valor crescente nas dietas com *Spirulina* em relação a dieta controle, mostrando que pode haver alterações em animais mais velhos e que não tenham a função de produção de carne.

De modo geral, baseado na literatura descrita, a utilização de 15% de *Spirulina* não traz um resultado aceitável para a performance dos frangos e a utilização da microalga com a lisozima piorou o rendimento. Mas isso não garante que a utilização de uma percentagem menor de *Spirulina* irá trazer o mesmo resultado, visto pela literatura que há divergências sobre a utilização de valores inferiores a 10%.

## 5.2 Influência da dieta no peso e comprimento de alguns órgãos do sistema digestório

Em relação ao comprimento e peso dos órgãos, observou-se um aumento no comprimento do duodeno dos animais que receberam as dietas com *Spirulina* e, também, um aumento no comprimento do jejuno nos frangos da dieta contendo apenas a *Spirulina* (MA), em relação aos da dieta controle. Aqueles que se alimentaram com a dieta MAL desenvolveram o íleo com maior massa em comparação aos animais da dieta que continha o Rovabio® (MAR). Esse aumento no tamanho desses órgãos pode dever-se à presença da *Spirulina*, responsável por causar uma gelificação de proteínas que aumenta a viscosidade, impedindo a absorção enzimática, essa dificuldade de absorção faz com que haja um aumento das criptas dos órgãos e conseqüentemente aumentando seu tamanho (Tenório 2015, Sugiharto *et al.* 2018, Toyomizu *et al.* 2001 e Evans *et al.* 2015).

Em relação à viscosidade analisada no duodeno e no jejuno, observou-se que os frangos referentes à dieta com *Spirulina* e lisoizima (MAL) apresentaram teores superiores sobre o controle, o que corrobora todos os dados anteriores (desempenho zootécnico e comprimento dos órgãos), mostrando que a junção da microalga com a enzima provocaram um aumento na viscosidade, afetando os demais parâmetros (Tenório 2015, Sugiharto *et al.* 2018, Toyomizu *et al.* 2001 e Evans *et al.* 2015).

Em um estudo realizado por Tenório (2015), avaliou-se a inclusão da *Spirulina* (0,3, 0,6, 0,9 e 1,2%) na dieta de frangos Cobb fêmeas durante 35 dias e as dietas eram a base de milho e soja. Nos resultados constataram que, conforme ocorria o aumento das concentrações das algas, o diâmetro de cripta nos segmentos duodeno e jejuno sofria alteração. O diâmetro do vilo da região do íleo também apresentou tendência ao aumento e o peso do fígado foi maior no nível de concentração de 0,9%. Isso mostra que a presença da spirulina no intestino delgado faz com que o órgão modifique suas estruturas para absorver os nutrientes dos alimentos que fica dificultado pela pelo aumento da viscosidade.

Sugiharto *et al.* (2018) utilizaram pintos Lohmann com dietas a base de milho e soja durante 35 dias com 1% de spirulina. Eles separaram os grupos em controle, um que recebeu dieta com microalga até o dia 7, outro que recebeu dieta com microalga até o dia 21 e o último que recebeu dieta com microalga até o último dia. A única diferença encontrada em relação aos órgãos, foi a presença dos cecos maiores nos

animais que se alimentaram de microalga até o final em relação aos animais que só tiveram spirulina até o dia 21 e o grupo controle ( $P<0,05$ ).

Toyomizu *et al.* (2001) realizaram um ensaio com pintos machos Arbor Acres que foram alimentados com dieta comercial do dia 1 ao dia 21 de vida, após esse dia foram separados em 3 grupos e utilizadas dietas a base de milho durante 16 dias, essas dietas eram divididas em dieta controle, dieta contendo 4% de spirulina e dieta contendo 8% de spirulina, ambas dietas com microalga foi substituído uma parte da soja. Não houve nenhuma modificação no peso ou no comprimento dos órgãos dos animais ( $P<0,05$ ). Pode-se supor que a spirulina em quantidades abaixo de 10% junto com um tempo pequeno de alimentação, não consegue modificar a estrutura dos órgãos do sistema digestivo.

Evans *et al.* (2015) realizaram dois tipos de ensaios com galos machos Comb White Leghorn (30 semanas de idade), e um terceiro ensaio com pintos Hubbard X Cobb (1 dia de idade). Os tratamentos iniciaram no dia 3 (pesagem dos animais) e encerram no dia 21, sendo replicados 16 vezes. Diferentes dietas foram formuladas através de peletização, sendo: dieta com 100% de milho; 100% de *Spirulina*; 50:50 milho e microalga, além de dietas contendo 6, 11, 16 e 21% de *Spirulina* com o intuito de observar a digestibilidade e absorção dos aminoácidos lisina, metionina, cisteína e treonina. De acordo com os resultados, constataram que a dieta contendo 21% de microalga ocasionou em menor ganho de peso e performance dos frangos, provavelmente devido ao aumento da viscosidade intestinal. Esse fato, pode-se dever à uma gelificação de proteínas que aumentou a viscosidade, impedindo a absorção enzimática e fazendo com que o desempenho e a digestibilidade fossem prejudicados. As que continham até 16% foram estatisticamente similares às dietas sem adição de *Spirulina* quanto ao ganho de peso e consumo de dieta ( $P>0,05$ ). No entanto, todas as dietas que continham a microalga favoreceram a digestão de aminoácidos.

De acordo com todos os trabalhos apresentados juntamente com o nosso ensaio, pode-se supor que a *Spirulina* é responsável por diminuir a absorção de nutrientes devido a gelificação que ela provoca, o organismo do animal tenta contornar essa diminuição da absorção com o aumento das criptas o que provoca o aumento do tamanho dos órgãos.

### 5.3 Influência da dieta no pH e na cor da carne

Quanto ao teste de pH, não verificou-se diferenças nas amostras, tanto na coxa, quanto no peito. Já os dados da cor mostraram-se superiores no parâmetro  $b^*$  nas dietas contendo *Spirulina*, no peito e na coxa. Somente na coxa foi observado um aumento no parâmetro  $a^*$  na dieta contendo *Spirulina* e Rovabio® (MAR), em relação a dieta Controlo. Essa diferença na cor pode ser justificada por a *Spirulina* ser rica em zeaxantina, que transmite para a carne, fazendo com que altere a coloração (Raach-Moujahed *et al.*, 2011, Altmann *et al.*, 2018, Debut *et al.*, 2003, Gigaud *et al.*, 2006, Raach-Moujahed *et al.*, 2011, Venkataraman *et al.*, 1994, Cheong *et al.*, 2016 e Toyomizu *et al.*, 2011).

Raach-Moujahed *et al.* (2011) utilizaram pintos (Arbor Acres) com um dia de idade para avaliação de quatro dietas experimentais durante 38 dias. As dietas tiveram como base o milho e a soja e distinguiram em relação à concentração de *Spirulina* (0, 1, 2,5 e 5%). Eles analisaram o pH da carne durante 24 h e obtiveram valores em torno de 5 e 6. No entanto, as diferenças não foram significativas ( $P>0,05$ ) entre os animais controlo e aqueles que receberam a microalga. Também relataram um aumento do parâmetro de cor  $b^*$  (amarelo) no peito de animais relativos às dietas contendo 2,5 e 5% de *Spirulina*, porém, sem diferenças no parâmetro de cor  $a^*$  (vermelho).

Em contrapartida, em uma pesquisa realizada durante 34 dias por Altmann *et al.* (2018), foram utilizados pintos machos (Ross 308) para testarem dietas contendo trigo, milho e soja e, também, uma dieta em que a *Spirulina* substituiu 50% da proteína de soja, sendo 118, 2 g da microalga/kg de alimento nos primeiros 21 dias e 97 g/kg no período restante. Na análise de pH observaram que as amostras controlo tiveram pH (6,76) mais elevado logo após o abate, enquanto as que continham a microalga mantiveram o pH mais (6,6) elevado após 24 h de abate, em relação ao controlo (pH 5,80). Além disso, notaram que os filés de peito do ensaio com espirulina apresentaram-se mais escuros, vermelhos e de cor mais amarelada do que os outros grupos de tratamento, sendo os parâmetros  $a$  e  $b$  acima do controlo. De acordo com Debut *et al.* (2003) e Gigaud *et al.* (2006), os valores relativamente baixos de pH podem estar relacionados ao abate, ao estresse pós-morte no momento da coleta das amostras e ao transporte dos músculos.

Com relação à análise de cor, Toyomizu *et al.* (2001) utilizaram pintos machos

(Arbor Acres), alimentados com dieta comercial do dia 1 ao dia 21 de vida. Em seguida, formaram-se 3 grupos para aplicação de dietas à base de milho durante 16 dias, sendo: dieta controle e dietas contendo 4 e 8% de *Spirulina*, ambas com microalga sendo substituta de uma parcela da soja. Observou-se que o parâmetro L\* dos filés de frango alimentados com a dieta contendo 40 g/kg de *Spirulina* foi significativamente menor em comparação aos da dieta controle ou com 80 g/kg de *Spirulina* (análise da coxa), porém no peito não ocorreu diferenças significativas. A vermelhidão (valor de a\*) de filés aumentou com a adição de *Spirulina* até 40 g/kg. Contudo, a coloração amarela (valor de b\*) aumentou de forma linear em todas as amostras.

Raach-Moujahed *et al.* (2011) utilizaram pintos (Arbor Acres) com um dia de idade. Foram elaborados e aplicados quatro tipos de dietas experimentais durante 38 dias. As dietas tiveram como base o milho e a soja e distinguiram em relação à concentração de *Spirulina* (0, 1, 2,5 e 5%). Os autores mostraram um aumento do parâmetro de cor b\* (amarelo) no peito de animais pertencentes às dietas contendo 2,5 e 5% de *Spirulina*, porém, sem diferenças no parâmetro de cor a\* (vermelho). Tanto Toyomizu *et al.* (2001), quanto Raach-Moujahed *et al.* (2011) relacionaram o aumento dos parâmetros de cor a\* e b\* com a presença de caroteno e zeaxantina presentes na microalga.

Venkataraman *et al.* (1994) utilizaram pintos Rani Shaver com 1 dia de vida para avaliações durante 12 semanas. Foram elaboradas três dietas à base de milho: dieta controle, dieta com 14% de *Spirulina* em substituição à farinha de peixe e dieta contendo 17% de *Spirulina* que substituiu a farinha de amendoim. Nos resultados relataram uma pigmentação mais intensa na pele e nos músculos do peito e da coxa de todos os frangos que ingeriram *Spirulina* nas proporções de 140 e 170 g/kg do animal. Segundo os pesquisadores, isso pode ter ocorrido pela ação dos carotenóides presentes na microalga que são incorporados nos tecidos dos animais.

Além disso, Cheong *et al.* (2016), em um estudo com codornas japonesas com quinze dias de idade até trinta e cinco dias, também encontraram diferenças na coloração do músculo do peito dos animais em relação ao controle. As dietas continham como base milho e soja, sendo variáveis as concentrações de *Spirulina* (1, 2, 4 e 8%). Os valores dos parâmetros de cor a\* e b\* foram significativamente maiores em relação à dieta controle. Resultados assim sugerem a capacidade da *Spirulina* em

afetar a coloração, provavelmente, devido à acumulação dos pigmentos  $\beta$ -caroteno e zeaxantina na carne (Toyomizu *et al.*, 2011).

Como foram relatados em vários estudos, inclusive no nosso ensaio, a coloração da carne dos animais que se alimentaram de *Spirulina* muda drasticamente, e esse fator pode inclusive melhorar o aspecto diante do consumidor, deixando a carne com uma coloração mais chamativa. Como foram ditos em alguns estudos, essa mudança da cor é devido à presença da microalga.

#### 5.4 Efeito da dieta na força de corte e na perda de água por cozimento

Sobre a força de corte e a perda de água, não foi detectado nenhuma alteração entre as dietas. Pelo fato de a soja possuir mais fibra que a *Spirulina*, era esperado uma diferença força de corte, o que não foi detectado, isso mostra que em relação a carne, a microalga não provoca alterações negativas.

Semelhantemente, Altmann *et al.* (2018) não verificaram diferenças na força de corte entre os grupos, porém, obtiveram amostras tratadas com *Spirulina* que resultaram numa força de corte relativamente inferior (11,16 N) e maior perda de água (29%). Nesse estudo foram utilizados pintos machos (Ross 308) para testarem dietas contendo trigo, milho e soja e, também, uma dieta em que a *Spirulina* substituiu 50% da proteína de soja.

Cheong *et al.* (2016) testaram diferentes concentrações de *Spirulina* (1, 2, 4 e 8%) nas dietas contendo milho e soja, destinadas às aves Japanese quail (*Coturnix japonica*) com 15 dias até 35 dias de idade. Ao final, observaram uma melhora na qualidade da carne, pois houve uma diminuição significativa da tenacidade da carne, com menor perda de água por cozimento e valores de força de corte inferiores nas amostras referentes aos grupos alimentados com 4 e 8% de *Spirulina* em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ).

A bibliografia utilizada mostrou que a *Spirulina* modifica a carne nesses parâmetros da força de corte e perda de água, o que não corrobora com nosso estudo, deixando assim uma possível suposição que a microalga em grande quantidade ( $>10\%$ ), pode não alterar a carne nesses parâmetros.

## 5.5 Efeito da dieta na análise sensorial

Na análise sensorial foi encontrado diferença no parâmetro da suculência, mostrando os valores das dietas MA e MAL abaixo da dieta controle. Pode-se supor que a presença da *Spirulina* diminuiu a suculência da carne, talvez o fato da microalga diminuir a absorção de nutrientes, pode ter ligação com a suculência através da gordura (Tenório 2015, Sugiharto *et al.* 2018, Toyomizu *et al.* 2001 e Evans *et al.* 2015).

Em um estudo realizado por Venkataraman *et al.* (1994), em que utilizou-se pintos Rani Shaver com um dia de vida por 12 semanas, foram aplicadas três dietas à base de milho, sendo: controle, dieta com 14% de *Spirulina*, que substituiu a farinha de peixe, e a terceira dieta, contendo 17% de *Spirulina*, que substituiu o amendoim. Na avaliação sensorial das amostras, as carnes de frangos de corte alimentados com dietas à base da microalga foram classificadas como de melhor qualidade, em termos de textura, suculência e flavor, comparadas aos frangos de corte do grupo controle.

Altmann *et al.* (2018) observaram diferenças na ternura e off-flavor (sabor metálico), sendo os valores do grupo controle acima das amostras pertencentes ao grupo com *Spirulina*. Nesse estudo, o ensaio com os frangos perdurou 34 dias, em que foram utilizados pintos machos (Ross 308) para testarem dietas contendo trigo, milho e soja e, também, uma dieta em que a *Spirulina* substituiu 50% da proteína de soja, sendo 118,2 g da microalga/kg de alimento nos primeiros 21 dias e 97 g/kg no período restante.

Raach-Moujahed *et al.* (2011) utilizaram pintos (Arbor Acres) com um dia de idade. No ensaio foram elaborados e aplicados quatro tipos de dietas experimentais durante 38 dias. As dietas tiveram como base o milho e a soja e distinguiram em relação à concentração de *Spirulina* (1, 2,5 e 5%). No entanto, na análise do painel sensorial não obtiveram diferenças em nenhum dos parâmetros da análise sensorial.

A análise sensorial não oferece dados tão confirmatórios quanto um aparelho eletrônico, esse fato é visto entre as bibliografias utilizadas, mostrando que há diferenças entre os painéis, o que dificulta um parecer confiável.

## 6. CONCLUSÃO

No presente trabalho, após o ensaio e as análises realizadas, podemos concluir que a utilização de 15% de *Spirulina* com a lisozima piorou o rendimento, devido ao fato da microalga com essa enzima poder provocar uma gelificação das proteínas contidas nos alimentos, o que dificulta a absorção de nutrientes e consequentemente afeta o rendimento. Mas isso não garante que a utilização de uma percentagem menor da *Spirulina* irá trazer o mesmo resultado, visto pela literatura que há divergências sobre a utilização de valores inferiores a 10%. Por tanto esse fato deixa em aberto um estudo futuro com valores inferiores aos utilizados nesse ensaio.

Em contrapartida, sobre a qualidade da carne, viu-se que a cor do peito e da coxa com a presença da *Spirulina*, principalmente junto com a lisozima, foi alterada para uma cor mais viva, que pode ou não atrair mais o consumidor, porém houve uma diminuição da suculência das amostras contendo *Spirulina*, como foi visto na análise sensorial, esse fato pode estar ligado a presença de gordura, o que pode também provocar uma atratividade maior pela carne. A inclusão de microalga na dieta dos frangos não introduziu off-flavors na carne, o que constitui uma vantagem sobre a utilização de óleos de peixe.

Globalmente, existem vários trabalhos com a utilização da *Spirulina* em diversas porcentagens de implementação e com resultados contraditórios. Para além disso, visto que é um ingrediente mais sustentável em relação aos outros comumente utilizados, acaba se tornando um objeto muito importante de estudo que merece ser continuado e aprofundado no futuro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abinandan, S., Subashchandrabose, R., Cole, N., Dharmarajan, R., Venkateswarlu, K., Megharaj, M. (2019), Sustainable production of biomass and biodiesel by acclimation of non-acidophilic microalgae to acidic conditions. *Bioresource Technology*, 271, 316-324.
- Abdollahi, M.R., Zaefarian, F. & Ravindran, V. (2018), Feed intake response of broilers: Impact of feed processing Animal. *Feed Science and Technology*, 237, 154-165.
- Adisseo (2014). Rovabio®, complexo multi-enzimático da Adisseo.  
<https://pt.engormix.com/MA-avicultura/nutricao/noticias/Rovabio®-complexo-multi-enzimatico-t19376/141-p0.htm>. Acessado em: 10.07.2018.
- Alnahhas, N., Berri, C., Boulay, M., Baéza, E., Jégo, Y., Baumard, Y., Chabault, M., Bihan-Duval, E. Le. (2014), Selection broiler chickens for ultimate pH of breast muscle: analysis of divergent selection experiment and phenotypic consequences on meat quality, growth and body composition traits. *Journal of Animal Science*, 94, 3816-3824.
- Altmann, B., A., Neumann, C., Velten, S., Liebert, F., Mörlein, D. (2018), Meat quality derived from high inclusion of a micro-alga or insect meal as an alternative protein source in poultry diets: a pilot study. *Foods*, 7, 34, 1-15.
- Amerah, A.M. (2015), Interactions between wheat characteristics and feed enzyme supplementation in broiler diets. *Animal Feed Science and Technology*, 199, 1-9.
- Amerah, A.M., Ravindran, V. & Lentle R.G. (2009), Influence of insoluble fibre and whole wheat inclusion on the performance, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens. *British Poultry Science*, 50, 366–375.
- Adeniyi, O.M., Azimov, U., Burluka, A. (2018), Algae biofuel: Current status and future applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 316–335.
- Annison, G. & Choct, M. (1991), Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. *World's Poultry Science Journal*, 47, 32-242.
- Annison, G., Hughes, R.J. & Choct, M. (1996), Effects of enzyme supplementation on the nutritive value of dehulled lupins. *British Poultry Science*, 37, 157-172.
- Anyanwu, R.C., Rodriguez, C., Durrant, A. & Olabi, A.G. (2018), Micro-Macroalgae Properties and Applications. *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*, 10.1016/B978-0-12-803581-8.09259-6.
- Associação Brasileira de Proteína Animal - ABPA. (2017), Relatório Annual-2017. <http://www.abpa-br.com.br/>. (acessado em 12.06.2018).
- Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais – IACA. Anuário IACA 2017. <https://pt.calameo.com/books/0005978538ced62501b04>. (Acessado 03.06.2018).

Austic, R.E., Mustafa, A., Jung, B., Gatrell, S. & Lei, X.G. (2013), Potential and Limitation of a New Defatted Diatom Microalgal Biomass in Replacing Soybean Meal and Corn in Diets for Broiler Chickens, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 7341–7348.

Bedford, M.R. & Cowieson, A.J. (2012), Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. *Animal Feed Science and Technology*, 173, 76-85.

Behnke, K. C. (1996), Feed manufacturing technology: current issues and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 62, 49-57.

Boonsinchai, N., Potchanakorn, M., Kijparkorn, S. (2016), Effects of protein reduction and substitution of cassava for corn in broiler diets on growth performance, ileal protein digestibility and nitrogen excretion in feces. *Animal Feed Science and Technology*, 216, 185–196.

Bonos, E., Kasapidou, E., Kargopoulos, A., Karampampas, A., Christaki, E., Florou-Paneri, P. & Nikolakakis, I. (2016), *Spirulina* as a functional ingredient in broiler chicken diets. *South African Journal of Animal Science*, 46, 94-102.

Brito, M.S. de, Oliveira, C.F.S., Silva, T.R.G., Lima, R.B., Moraes, S.N. & Silva, J.H.V. (2008), polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos – revisão. *Acta Veterinaria Brasilica*, 2, 111-117.

Campestrini, E., Silva, V.T.M.da. & Appelt, M.D. (2005), Utilização de enzimas na alimentação animal. *Revista Eletrônica Nutritime*, 2, 254-267.

Castellini, C., Mugnai, C., Dal Bosco, A.C. (2002), Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality. *Meat Science*, 60, 219-225.

Chamorro, S., Viveros, A., Rebolé, A., Arija, I., Romero, C., Alvarez, I., Rey, A. & Brenes, A (2017). Addition of exogenous enzymes to diets containing grape pomace: Effects on intestinal utilization of catechins and antioxidant status of chickens. *Food Research International*, 96, 226-234.

Chen, X., Jiang, W., Tan, H Z., Xu, G.F., Zhang, X.B., Wei, S. & Wang X. Q. (2013), Effects of outdoor access on growth performance, carcass composition, and meat characteristics of broiler chickens. *Poultry Science*, 92, 435-443.

Chena, J., Lia, J., Donga, W., Zhanga, X., Tyagib, R.D., Droguib, P., Surampalli, R.Y. (2018), The potential of microalgae in biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 336–346.

Cheng, J.H. (2016), Lipid oxidation in meat. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 6, 1-3.

Cheong, D.S.W., Kasim, A., Sazili, A.Q., Omar, H. & Teoh, J.Y. (2016), Effect of supplementing *Spirulina* on live performance, carcass composition and meat quality of japanese quail. *Walailak J. Sci. & Tech.*, 13(2), 77-84.

- Chisti, Y. (2007) Biodiesel from microalgae. *Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances*, 25, 294–306.
- Choct, M. & Annison, G. (1992), Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: Roles of viscosity and gut microflora. *British Poultry Science*, 33, 821-834.
- Choct, M., Kocher, A., Waters, D.L.E., Pettersson, D. & Ross, G. (2004), A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 92, 53–61.
- Ciferri, O. (1983), *Spirulina*, the Edible Microorganism. *Microbiological Reviews*, 47, 551-578.
- Combs, G.F. (1952), Algae (*Chlorella*) as a Source of Nutrients for the Chick. *Science*, 116, 453-454.
- Cosgrove, M., Flynn, A. & Kiely, M. (2005), Consumption of red meat, white meat and processed meat in Irish adults in relation to dietary quality. *British Journal of Nutrition*, 93, 933-942.
- Costa, E.M.S., Figueirêdo, A.V.D, Filho, M.A.M., Ribeiro, M.N. & Lima, V.B.S. (2015), Grão integral processado e coprodutos da soja em dietas para frangos de corte. *Revista Ciência Agronômica*, 46, 846-854.
- Crespo, N. & Esteve-Garcia, E. (2001), Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. *Metabolism and Nutrition*, 80, 71-78.
- Debut, M., Berri, C., Baéza, E., Sellier, N., Arnoud, C., Guémené, D., Bouten, B., Jehl, N., Jégo, Y., Beaumont, C. & Le Bihan-Duval, E. (2003), Variation of Chicken Technological Meat Quality in Relation with Genotype and Stressing Pre- Slaughter Conditions. *Poultry Science*, 82, 1829-1838.
- Devos, M., Poisson, L., Ergon, F., Pencreac'h, G. (2006), Enzymatic hydrolysis of phospholipids from *Isochrysis galbana* for docosahexaenoic acid enrichment. *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 548–554.
- Diógenes, A.F., Castro, C., Carvalho, M., Magalhães, R., Estevão-Rodrigues, T.T.; Serra, C.R., Oliva-Teles, A. & Peres, H. (2017), Exogenous enzymes supplementation enhances diet digestibility and digestive function and affects intestinal microbiota of turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles fed distillers' dried grains with solubles (DDGS) based diets. *Aquaculture*, 486, 42-50.
- Dinh, T.T.N., Thompson, L.D., Galyean, M.L., Brooks, J.C., Patterson, K.Y. & Boylan, L.M. (2011), Cholesterol Content and Methods for Cholesterol Determination in Meat and Poultry Comprehensive *Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, 269-289.
- Downing, J.A., Kerr, M.J., Hopkins, D.L. (2017), The effects of pre-transport supplementation with electrolytes and betaine on performance, carcass yield and meat quality of broilers in summer and winter. *Livestock Science*, 205, 16-23.
- Dubey, A., & Verma, A. K. (2019). Enzyme Engineering for Enzyme Activity Improvement. *Enzymes in Food Biotechnology*, 675–689. doi:10.1016/b978-0-12-813280-7.00039-6.

Eichner, G. (2005). Alternativas na formulação de dietas vegetarianas para frangos de corte. (Dissertação de Mestrado). Universidade do Rio Grande do Sul, Brasil.

Evans, A. M., Smith, D. L., Moritz, J.S. (2015), Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. *J. Appl. Poult. Res.*, 24, 206-214.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010. Poultry Meat & Eggs-agribusiness handbook. <http://www.fao.org> (acessado 04.06.18).

Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. Family poultry development – Issues, opportunities and constraints. Animal Production and Health Working Paper. 12. Rome. <http://www.fao.org> (acessado 04.06.18).

Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. The state of food and agriculture. <http://www.fao.org> (acessado 07.06.18).

Farrell, D.J. & Martin, E.A. (1998), Strategies to improve the nutritive value of rice bran in poultry diets. I. The addition of food enzymes to target the non-starch polysaccharide fractions in diets of chickens and ducks gave no response. *British Poultry Science*, 39, 549–554.

Ferreira, S.P., Souza-Soares, L. de & Costa, J.A.V. (2013), Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. *Revista de Ciências Agrárias*, 363, 275-287.

Fry, R.E., Allred, J.B., Jensen, L.S & McGinnis, J. (1958), Influence of Enzyme Supplementation and Water Treatment on the Nutritional Value of Different Grains for Poults. *Poultry Science*, 37, 372–375.

Garcia, E.R. de.M., Murakami A.E., Branco, A.F., Furlan, A.C., Moreira, I. (2000), Efeito da suplementação enzimática em rações com farelo de soja e soja integral extrusada sobre a digestibilidade de nutrientes, o fluxo de nutrientes na digesta ileal e o desempenho de frangos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29, 1414-1426.

Garrido-Cardenas, J.A., Manzano-Agugliar, F., Acien-Fernandez, F.G., Molina-Grima, E. (2018), *Microalgae research worldwide Algal Research*, 35, 50–60.

Gholami, M., Seidavi, A., O'Shea, C.J., Akter, Y., Dadashbeiki, M. & Bahar, B. (2017), Feeding regimen of breeder broiler hen influences growth performance of the broiler chickens. *Livestock Science*, 203, 132-135.

Gigaud, V., Geffrard, A., Berri, C., Le Bihan-Duval, E., Travel, A. & Bordeau, T. (2006). Conditions environnementales ante mortem (ramassage- transport-abattage) et qualité technologique. *Viandes Produits Carnés*, 26, 17-20.

Gongnet, G.P., Niess, E., Rodehutschord, M. & Pfeffer, E. (2001), Algae-meal (*Spirulina platensis*) from lake Chad replacing soybean-meal in broiler diets. *Archiv. Geflug.*, 65, 265-268.

Harel, M. & Clayton, D. (2004), Feed formulation for terrestrial and aquatic animals. US Patent 20070082008 (WO/2004/080196).

- Higgs, J.D. (2000), The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 85-95.
- Humphrey, B.D., Huang, N. & Klasing, K.C. (2002), Rice expressing lactoferrin and lysozyme has antibiotic-like properties when fed to chicks. *Nutrient Metabolism*, 132, 1214-1218.
- Hussein, E. & Selim, S. (2018), Efficacy of yeast and multi-strain probiotic alone or in combination on growth performance, carcass traits, blood biochemical constituents, and meat quality of broiler chickens. *Livestock Science*, 216, 153-15.
- Jamil, A.B.M.R., Akanda, R., Rahman, M., Hossain, A. & Islam, S. (2015), Prebiotic competence of *Spirulina* on the production performance of broiler chickens. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 2, 304-309.
- Jaturasitha, S., Srikanchai, T., Kreuzer, M., Wicke, M. (2008), Differences in carcass and meat characteristics between chicken indigenous to northern Thailand (black-boned and thai native) and imported extensive breeds (bresse and rhode island red). *Poultry Science*, 87, 160-169.
- Jorgensen, H., Zhao, X.Q., Knudsen, K.E.B. & Eggum, B.O. (1996), The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 15, 379-395.
- Junqueira, O.M., Andreotti, M.O. (*in memoriam*), Araújo, L.F., Duarte, K.F., Cancherini, L.C. & Rodrigues, E.A. (2005), Valor energético de algumas fontes lipídicas determinado com frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34, 2335-2339.
- Krabbe, E. & Mazzuco, H. (2011), Uso de enzimas para dietas em poedeiras comerciais. *Avicultura Industrial*, 6, p.16-23.
- Koch, K. (1996), Hammermills and Roller Mills. MF-2048 Feed Manufacturing. Department of Grain Science and Industry, Kansas State University, Manhattan, KS, USA, 1-4.
- Lee, S. Y., Kim, J. S., Kim, J. M., An, B. A., Kang, C. W. (2010), Effects of multiple enzyme (Rovabio® Max) containing carbohydrases and phytase on growth performance and intestinal viscosity in broiler chicks fed corn-wheat-soybean meal based diets. *J. Anim. Sci.*, 23(9), 1198.
- Liesen, A.P., Aquino, T.M. de & Góes, A.J.S. (2008), Métodos de obtenção, reatividade e importância biológica de 4-tiazolidinonas. *Química Nova*, 31, 369-376.
- Lipstein, B.; Hurwitz, S. (1983), The Nutritional Value of Sewage-Grown Samples of *Chlorella* and *Micrometinium* in Broiler Diets. *Poultry Science*, 62, 1254-1260.
- Liu, D., Guo, Y., Wang, Z., Yuan, J. (2010), Exogenous lysozyme influences *Clostridium perfringens* colonization and intestinal barrier function in broiler chickens. *Avian Pathology*, 39, 17-24.

- Losinger, W.C. (1998), Feed-conversion ratio of finisher pigs in the USA. *Preventive Veterinary Medicine*, 36, 287-305.
- Lum, K.K.; Kim, J & Lei, X.G. (2013), Dual potential of microalgae as a sustainable biofuel feedstock and animal feed. *Journal of animal science and biotechnology*, 4, 1-7.
- Lutz, S. (2010), Beyond directed evolution - semi-rational protein engineering and design. *Current Opinion in Biotechnology*, 21, 734-743.
- Igene, J.O., Pearson, A.M., Dugan JR, L.R., & Price, J.F. (1980), Role of triglycerides and phospholipids on development of rancidity in model meat systems during frozen storage. *Food Chemistry*, 5, 263-276.
- Mahmood, T., Mirza, M.A., Nawaz, H., Shahid, M., Athar, M. Hussain, M. (2017), Effect of supplementing exogenous protease in low protein poultry by-product meal based diets on growth performance and nutrient digestibility in broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 228, 23-31.
- Mariey, Y.A., Samak, H.R., Ibrahim, M.A. (2012), Effect of using *Spirulina platensis* algae as a feed additive for poultry diets: 1- productive and reproductive performances of local laying hens. *Egyptian Poultry Science Journal*, 32, 201-215.
- Marques, T.J. de A.R. (2013). Análise integrada do ciclo produtivo de galinhas reprodutoras. (Dissertação de Mestrado). Instituto Politécnico de Viseu, Portugal.
- McAfee, A.J.; McSorley, E.M.; Cuskelly, G.J.; Moss, B.W.; Wallace, J.M.W.; Bonham, M.P. & Fearon, A.M. (2010), Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*, 84, 1–13.
- Madeira, M.S., Cardoso, C., Lopes, P.A., Coelho, D., Afonso, C., Bandarra, N.M & Prates, J.A.M. (2017), Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: a review. *Livestock Science*, 205, 111-121.
- Mendes, A.R.A. (2014), Suplementação com xilanase de regimes alimentares à base de milho e soja para frangos de carne (Dissertação de Mestrado). Instituto Superior de Agronomia – Universidade de Lisboa. Portugal.
- Milicevica, D., Trbovica, D., Petrovica, Z., Jakovac-Strajnb, B., Nastasijevica, I. & Koricanaca, V. (2015), Physicochemical and functional properties of chicken meat. *Procedia Food Science*, 5, 191-194.
- Mirzaie, S., Zirak-Khattab, F., Hosseini, S.A. & Donyaei-Darian, H. (2018), Effects of dietary *Spirulina* on antioxidant status, lipid profile, immune response and performance characteristics of broiler chickens reared under high ambient temperature. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 13, 556-563.
- Murakami, K.T.T., Pinto, M.F., Ponsano, E.H.G. & Neto, M.G. (2010), Desempenho produtivo e qualidade da carne de frangos alimentados com ração contendo óleo de linhaça. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45, 401-407.

- Navarro, F., Forja, E., Vázquez, M., Montero, Z., Bermejo, E., Castaño, M.A., Toimil, A., Chagüaceda, E., García-Sevillano, M.A., Sánchez, M., Domínguez, M.J., Pásaro, R., Garbayo, I., Vílchez, C. & Vega, J.M. (2016), Microalgae as a safe food source for animals: nutritional characteristics of the acidophilic microalga *Coccomyxa onubensis*. *Food and Nutrition Research*, 60, <http://dx.doi.org/10.3402/fnr.v60.30472>.
- Nile, C.J., Townes, C.L., Michailidis, G., Hirst, B.H. & Hall, J. (2004), Identification of chicken lysozyme g2 and its expression in the intestine. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61, 2760-2766.
- Nir, I., Shefet, G. & Nitsan, Z. (1993), Effect of grain particle size performance. 2. Grain texture interactions. *Poultry Science*, 73, 781-791.
- Nitsan, Z., Ben-Avraham, G., Zoref, Z. & Nir, I. (1991), Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. *British Poultry Science*, 32, 515-523.
- Nunes, J.K., Maier, J.C., Gonçalves, F.M., Gentilini, F.P., Anciuti, M.A. & Rutz, F. (2010), Desempenho produtivo de frangos de corte alimentados com farinha de batata doce em substituição parcial ao milho, com ou sem suplementação enzimática ARS VETERINARIA, 26, 170-177.
- Nunes, J.K., Gonçalves, F.M., Dallmann, H.M., Gentilini, F.P., Anciuti, M.A., Rutz, F., Maier, J.C. & Silva, J.G.C. da. (2011), Desenvolvimento do sistema digestório de frangos de corte alimentados com farinha de batata doce. *Revista arquivos de zootecnia*, 60, 1105-1114.
- Overland, M., Borge, G.I., Vogt, G., Schoyen, H.F. & Skrede, A. (2011), Oxidative stability and sensory quality of meat from broiler chickens fed a bacterial meal produced on natural gas. *Poultry Science*, 90, 201–210.
- Phwana, C.K., Ongb, H.C., Chenc, W.H., Linga, T.C., Nge, E.P., Show, P.L. (2018), Overview: Comparison of pretreatment technologies and fermentation processes of bioethanol from microalgae. *Energy Conversion and Management*, 173, 81–94.
- Phillips, D.C. (1966), The three-dimensional structure of an enzyme molecule. *Scientific American*, 215, 78-90.
- Pirgozliev, V.R., Birch, C.L., Rose, S.P., Kettlewell, P.S. & Bedford, M.R. (2003), Chemical composition and the nutritive quality of different wheat cultivars for broiler chickens. *British Poultry Science*, 44, 464–475.
- Prestigiacomo, C., Costa, P., Pinto, F., Schiavo, B., Siragusa, A., Scialdone, O., Galia, A. (2019), Sewage sludge as cheap alternative to microalgae as feedstock of catalytic hydrothermal liquefaction processes. *The Journal of Supercritical Fluids*, 143, 251-258.
- Priyadarshani, I., Rath, B. (2012), Commercial and industrial applications of micro algae - A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3, 89-100.

- Qureshi, M.A., Garlich, J.D. & Kidd, M.T. (1996), Dietary *Spirulina platensis* enhances humoral and cell- mediated immune functions in chickens. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 18, 465-476.
- Raach-Moujahed, A., Hassani, S., Zairi, S., Bouallegue, M., Darej, C., Haddad, B., Damergi, C. (2011), Effect of dehydrated *Spirulina platensis* on performances and meat quality of broilers. *Roavs*, 1, 505-509.
- Ravindran, V., Hew, L.I., Ravindran, G & Bryden, W.L. (2005), Apparent ileal digestibility of amino acids in dietary ingredients for broiler chickens. *Animal Science*, 81, 85-97.
- Ravindran, V. & Son, J.H. (2011), Feed Enzyme Technology: Present Status and Future Developments. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 3, 102-109.
- Ribeiro, B.R.C., Lara, L.J.C., Baião, N.C., Lopez, C.A.A., Fiuza, M.A., Cançado, S.V. & Silva, G.M.M. (2007), Efeito do nível de ácido linoléico na ração de matrizes pesadas sobre o peso, composição e eclosão dos ovos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59, 789-796.
- Ribeiro, P. (2016). Análises físico-químicas de óleo de soja refinado comercializado em Ponta Grossa – Paraná. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil.
- Ross, E., Dominy, W. (1990), The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry. *Poult. Sci.*, 69, 794-800.
- Ross Broiler – Management Handbook, (2014). Broiler 308: Nutrition specifications. [http://pt.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/Ross\\_Broiler/Ross308BroilerNutritionSpecs2014-EN.pdf](http://pt.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross308BroilerNutritionSpecs2014-EN.pdf). Acessado em: 14.06.2018.
- Roza, L. da. (2017). Diferentes metodologias na avaliação nutricional de rações e de microalga para frangos de corte. (Dissertação de mestrado). Chapecó, Brasil.
- Sahoo, N.R., Kumar, P., Bhusan, B., Bhattacharya, T.K., Dayal, S. & Sahoo, M. (2012), Lysozyme in Livestock: A Guide to Selection for Disease Resistance: a Review. *Journal of Animal Science Advances*, 2, 347-360.
- Santos, C. A. I. (2008), Efeito da suplementação enzimática de dietas à base de centeio, em diferentes períodos do ciclo produtivos, nas performances de frangos de carne (dissertação de mestrado). Instituto Superior de Agronomia – Universidade de Lisboa. Portugal.
- SAS Institute Inc. (2012). SAS/STAT 9.1 User's guide. SAS Institute, Cary, Nc.
- Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A., Abd\_Allah, E.F. (2017), Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003>.
- Shanmugapriya, B. & Babu, S.S. (2014), Supplementary effect of *Spirulina platensis* on performance, hematology and carcass yield of broiler chicken. *Indian Streams Research Journal*, 4, 1-7.

Souza-Soares, L.A.; Siewerdt, F. (2005), Aves e ovos. Pelotas: Ed. da Universidade UFPEL, 67-76.

Souza, N.E. & Visentainer, J.V. (2006), Colesterol da mesa ao corpo. 1. ed. São Paulo: Varela, 41-71.

Strada, E.S. de O., Abreu, R.D., Oliveira, G.J.C. de, Costa, M. do C.M.M. da, Carvalho, G.J.L. de, Franca, A.S., Clarton, L. & Azevedo, J.L.M. de. (2005), Uso de enzimas na alimentação de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34, 2369-2375.

Sugiharto, S., Yudiarti, T., Isroli, I. & Widiastuti, E. (2018), Effect of feeding duration of *Spirulina platensis* on growth performance, haematological parameters, intestinal microbial population and carcass traits of broiler. *South African Journal of Animal Science*, 48, 98-107.

Sun, Y. Y., Tang, S., Chen, Y., Li, D. L., Bi, Y. L., Hua, D. K., Chen, C., Luo, Q. Y., Yang, L., Chen, J. L. (2017), Effects of light regimen and nutrient density on growth performance, carcass traits, meat quality, and health of slow-growing broiler chickens. *Livestock Science*, 198, 201-208.

Stefanello, C., Vieira, S.L., Rios, H.V., Simões, C.T., Ferzola, P.H., Sorbara, J.O.B., Cowieson, A.J. (2017), Effects of energy,  $\alpha$ -amylase, and  $\beta$ -xylanase on growth performance of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 225, 205-212.

Tenório, A.G. (2015). Avaliação de desempenho, morfometria intestinal e qualidade de carne de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com extrato de algas. (Dissertação de Mestrado). Dois Vizinhos, Brasil.

Toledo, G.S.P. de, Costa, P.T.C., Silva, J.H., Ceccantinil, M., Junior, C.P. (2007), Frangos de corte alimentados com dietas de diferentes densidades nutricionais suplementadas ou não com enzimas, *Ciência Rural*, 37, 518-523.

Tong, H. B., Wang, Q., Lu, J., Zou, J. M., Chang, L. L., Fu, S. Y. (2014), Effect of free-range days on a local chicken breed: Growth performance, carcass yield, meat quality, and lymphoid organ index. *Poultry Science*, 93, 1883-1889.

Torres, D.M., Cotta, J.T. de B., Teixeira, A.S., Muniz, J.A., Fonseca, R.A., Santos, E.C. dos, Alves, E.L. (2003), Dietas à base de milho e farelo de soja suplementadas com enzimas na alimentação de frangos de corte. *Ciência e agrotecnologia*, 27, p. 199-205.

Toyomizu, M., Sato, K., Taroda, H., Kato, T. & Akiba, Y. (2001), Effects of dietary *Spirulina* on meat colour in muscle of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 42, 197-202.

USDA - National Agriculture Statistics Service. Poultry – Production and Value, 2017. Summary (April 2018); ISSN 1949-1573.

Usharani, G., Saranraj, P. & Kanchana, D. (2012), *Spirulina* Cultivation: A Review G. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, 3, 1327-1341.

Vassilev, S.V. & Vassileva, S.V. (2016), Composition, properties and challenges of algae biomass for biofuel application: An overview. *Fuel*, 181, 1–33.

Venkataraman, L.V., Somasekaran, T. & Becker, E.W. (1994), Replacement value of blue-green alga (*Spirulina platensis*) for fishmeal and a vitamin-mineral premix for broiler chicks. *Br. Poult. Sci.*, 35, 373-381.

Venturini, R.S. (2017). Características da carne de cordeiros e borregos alimentados com dietas de alto concentrado de milho ou sorgo. (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Santa Maria, Brasil.

Viana, M.T. dos S., Albino, L.F.T, Rostagno, H.S., Silva, E.A. das, Messias, R.K.G., Pereira, J.P.L. (2009), Efeito do uso de enzimas sobre o desempenho e metabolismo de poedeiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38, 1068-1073.

Wisdom Super Foods. Disponível em: <https://wisdomsuperfoods.com/shop/nahrungsergaenzungsmittel/Spirulina>. Acessado em: 08.08.2018.

World Cancer Research Fund Network, (2018), Meat, fish and dairy products and the risk of cancer.

Yang, X., Xin, H., Yang, X., Yang, X. (2018), Impact of essential oils and organic acids on the growth performance, digestive functions and immunity of broiler chickens. *Animal Nutrition*, <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.005>.

Yoshida, M. & Hoshi, H. (1980), Nutritive value of *Spirulina*, green algae, for poultry feed. *Japanese Poultry Science*, 17, 27-30.

Zhang, Z. Y., Jia, G. Q., Zuo, J. J., Zhang, Y., Lei, J., Ren, L., Feng, D. Y. (2012), Effects of constant and cyclic heat stress on muscle metabolism and meat quality of broiler breast fillet and thigh meat. *Poultry Science*, 91, 2931-2937.

Zhuang, H., Savage, E. M., Smith, D. P., Berrang, M. E. (2009), Effect of dry-air chilling on sensory descriptive profiles of cooked broiler breast meat deboned four hours after the initiation of chilling. *Poultry Science*, 88, 1282-1291.

Zhuang, H., Savage, E. M. (2011), Effect of postmortem deboning time on sensory descriptive flavor and texture profiles of cooked boneless skinless broiler thighs. *LWT – Food Science and Technology*, 44, 2087-2090.