

**HALLEF RIEGER SALGADO**

**SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO E DE LIGNINA  
PURIFICADA PARA FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Arele Arlindo Calderano

Coorientadores: Gabriel Cipriano Rocha  
Luiz Fernando Teixeira Albino

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

T

Salgado, Hallef Rieger, 1993-  
S164s Suplementação de ácido guanidinoacético e de lignina purificada para  
2024 frangos de corte / Hallef Rieger Salgado. - Viçosa, MG, 2024.

1 tese eletrônica (54 f.): il.

Inclui anexos.

Orientador: Arele Arlindo Calderano

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de  
Zootecnia, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.366>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Frango de corte - Alimentação e rações; 2. Rações -Aditivos; 3.  
Antioxidantes; 4. Metabolismo energético; I. Calderano, Arele Arlindo II.  
Universidade Federal de Viçosa.. Departamento de Zootecnia. Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia III. Título

CDD 22. ed. 636.50855

**HALLEF RIEGER SALGADO**

**SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO E DE LIGNINA  
PURIFICADA PARA FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA:

Assentimento:

  
Hallef Rieger Salgado  
Autor

  
Arele Arlindo Calderano  
Orientador

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, cuja força foi fundamental para minha jornada, sem sua graça, não teria alcançado este marco em minha vida.

Aos familiares Raimundo (*in memoriam*), Sanderli, Halibe, Luiza, Isabele, Sofia, Davi, Joaquim e Fabiana, expresse minha profunda gratidão pelo amor incondicional, apoio emocional e incentivo contínuo ao longo dos anos. Cada um de vocês é uma peça fundamental na minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade concedida e pelo ambiente propício ao aprendizado e pesquisa. Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) pela concessão da bolsa e auxílio financeiro durante todo o curso.

Ao professor Dr. Arele Arlindo Calderano pela orientação, incentivo constante e aprendizado proporcionado ao longo deste percurso acadêmico.

Aos professores Melissa Izabel Hannas e Luiz Fernando Teixeira Albino (*in memoriam*), pelo ensino de qualidade, coorientação, disciplinas e eventos científicos que enriqueceram minha formação.

Aos funcionários do Setor de Avicultura da UFV, por todo auxílio durante todas as atividades.

Aos amigos do coração, Rafael, Karina, Warley, Rodrigo, Mylena, Rayanne, Amanda, Carlos, Kelly, Sthefany, Romário, Samuel, Nathana, Arthur, Bruno, Claudiney, Heloisa, Jean e Pedro, cujo apoio e companheirismo foram fundamentais durante toda minha jornada.

Além disso, gostaria de expressar minha gratidão aos professores e doutores Arele Arlindo Calderano, Jansler Luiz Genova, Melissa Izabel Hannas, Ideraldo Luiz Lima e Marcelo Dias da Silva, membros da banca e colegas de departamento que ajudaram durante o desenvolvimento desta tese.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para este trabalho, meu sincero agradecimento. Este é um marco que compartilho com todos vocês.

Muito obrigado!

## BIOGRAFIA

Hallef Rieger Salgado, filho de Sanderli Maria Salgado e Raimundo Felix (*in memoriam*), nasceu em 14 de outubro de 1993, em Ponte Nova, Minas Gerais, Brasil. Ingressou no curso Bacharel em Zootecnia no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas *Campus* Rio Pomba em março de 2012, graduando-se em julho de 2017. Em agosto de 2017, iniciou-se o programa de pós-graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, atuando na área de Nutrição e Produção de animais monogástricos, com linha de pesquisa em avicultura, sob orientação do professor Luiz Fernando Teixeira Albino (*in memoriam*), e em fevereiro de 2020 obteve o título de mestre em Zootecnia. Em março de 2020 retorna a Universidade Federal de Viçosa para dar início ao seu doutorado em Zootecnia com especialização em Nutrição e Produção de Aves e Suínos, sob orientação do professor Arele Arlindo Calderano. Em março de 2024, submeteu-se à defesa da tese para obtenção do título de Doctor Scientiae em Zootecnia.

## RESUMO

SALGADO, Hallef Rieger, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2024. **Suplementação de ácido guanidinoacético e de lignina purificada para frangos de corte.** Orientador: Arele Arlindo Calderano. Coorientadores: Gabriel Cipriano Rocha, Luiz Fernando Teixeira Albino.

Dois experimentos foram conduzidos com objetivo de avaliar os efeitos da suplementação de ácido guanidinoacético (AGA) e de lignina purificada no desempenho e nas respostas fisiológicas de frangos de corte criados do primeiro ao 42º dia de idade. No experimento I, distribuí-se um total de 1280 pintos machos (Cobb 500<sup>®</sup>) em um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos, oito repetições e vinte aves por unidade experimental. Os tratamentos basearam-se nos níveis de energia metabolizável (EM) da dieta, sendo: (2775-2875-2975 kcal/kg; 2850-2950-3050 kcal/kg; 2925-3025-3125 kcal/kg; ou 3000-3100-3200 kcal/kg, dos 1 a 7, 8 a 21 e 22 a 42 dias de idade) e na inclusão de AGA (0 ou 600 mg/kg). O objetivo deste trabalho foi avaliar como o AGA afeta o desempenho e estimar uma equivalência em energia metabolizável (EM). Os resultados foram: 1) a suplementação de AGA aumentou o ganho de peso (GP) em frangos de corte em um nível de energia de 2908 kcal/kg e melhorou a conversão alimentar (CA) em níveis de energia de 2908 e 2983 kcal/kg; 2) observou-se uma redução linear no consumo de ração (CR) e uma melhora na CA dos frangos de corte com o aumento dos níveis de energia nas dietas, com e sem adição de AGA; e 3) foi estimada uma equivalência de AGA de 133, 103, 74 e 44 kcal/kg de ração. Concluiu-se que a suplementação de AGA melhora a eficiência de utilização de energia dos frangos de corte e que 600 mg/kg apresenta equivalência média de EM de 88,5 kcal/kg. No experimento II, distribuí-se um total de 1000 pintos machos (Cobb 500<sup>®</sup>) em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, dez repetições e vinte animais por unidade experimental. Os tratamentos basearam-se em um dieta à base de milho e farelo de soja, sendo: T1: Ração basal + antibiótico avilamicina a 10% (controle positivo); T2: Ração basal sem suplementação de antibiótico ou lignina purificada (controle negativo); T3: Ração basal + 0,1% de lignina purificada; T4: Ração basal + 0,2% de lignina purificada; T5: Ração Basal + 0,5% de lignina purificada. O objetivo foi avaliar a suplementação de lignina em diferentes níveis como alternativa ao uso do antibiótico avilamicina, no desempenho produtivo, rendimento de carcaça e partes (peito, coxa e sobrecoxa, e gordura abdominal), peso relativo dos órgãos linfoides (bursa de Fabricius e baço) e fígado, níveis séricos de malondialdéido (MDA) e expressão de mRNA de fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) e enzimas antioxidantes glutathiona peroxidase (GPX) e superóxido dismutase

(SOD1), em frangos de corte criados sob desafio sanitário. Para todas variáveis estudadas não foram observados efeitos significativos dos tratamentos. Concluiu-se que a suplementação de lignina purificada nos níveis de 0,1%, 0,2% e 0,5%, assim como a avilamicina 10%, não melhorou o desempenho nem as respostas antioxidantes em frangos de corte.

Palavras-chave: Aditivo; Antioxidantes; Energia metabolizável.

## ABSTRACT

SALGADO, Hallel Rieger, D.Sc., Federal University of Viçosa, March, 2024. **Supplementation of guanidinoacetic acid and purified lignin for broilers chickens.** Adviser: Arele Arlindo Calderano. Co-advisers: Gabriel Cipriano Rocha, Luiz Fernando Teixeira Albino

Two experiments were conducted with the objective of evaluate the effects of guanidinoacetic acid (GAA) and purified lignin supplementation on the performance and physiological responses of broiler chickens from the first to the 42 days post-hatching. In experiment I, a total of 1280 male chicks (Cobb 500<sup>®</sup>) were distributed in a completely randomized design with eight treatments, eight replications and twenty birds per experimental unit. The treatments were based on the levels of metabolizable energy (ME) of the diet, being: (2,775-2,875-2,975 kcal/kg; 2,850-2,950-3,050 kcal/kg; 2,925-3,025-3,125 kcal/kg; or 3,000-3,100 -3,200 kcal/kg, from 1 to 7, 8 to 21 and 22 to 42 days of age) and the inclusion of GAA (0 or 600 mg/kg). The objective of this work was to evaluate the impacto of GAA on live performance and estimate an equivalence in metabolizable energy (ME). The results were: 1) GAA supplementation increased weight gain (WG) in broiler chickens at an energy levels of 2,908 kcal/kg and improved feed conversion ratio (FCR) at energy levels of 2,908 and 2,983 kcal/kg; 2) a linear reduction in feed intake (FI) and an improvement in the FCR of broiler chickens was observed with the increase in energy levels in the diets, with and without the addition of GAA; and 3) a GAA equivalence of 133, 103, 74 and 44 kcal/kg of feed was estimated. It was concluded that GAA supplementation improves the energy utilization efficiency of broiler and that 600 mg/kg presents an average ME equivalence of 88.5 kcal/kg. In experiment II, a total of 1000 male chicks (Cobb 500<sup>®</sup>) were distributed in a completely randomized design with five treatments, ten replications and twenty animals per experimental unit. The treatments were based on a diet based on corn and soybean meal, being: T1: Basal diet + 10% avilamycin antibiotic (positive control); T2: Basal diet without antibiotic or purified lignin supplementation (negative control); T3: Basal diet + 0.1% purified lignin; T4: Basal diet + 0.2% purified lignin; T5: Basal ration + 0.5% purified lignin. The objective was to evaluate lignin supplementation at different levels as an alternative to the use of the antibiotic avilamycin, on productive performance, carcass yield and parts (breast, thighs with drumstick, and abdominal fat), relative weight of lymphoid organs (bursa of Fabricius and spleen) and liver, serum levels of malondialdehyde (MDA) and mRNA expression of nuclear factor kappa B (NF-κB) and antioxidant enzymes glutathione peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD1), in broiler chickens raised under health

challenge. For all variables studied, no significant treatments effects were observed. It was concluded that supplementation of purified lignin at levels of 0.1%, 0.2% and 0.5%, as well as avilamycin at 10%, did not improve performance or antioxidant responses in broiler chickens.

**Keywords:** Additive; Antioxidants; Metabolizable energy.

## SUMÁRIO

<b>Introdução geral</b> .....	10
Ácido guanidinoacético .....	10
Lignina purificada.....	13
Referências .....	15
<b>Capítulo 1</b> .....	20
Resumo.....	21
1. Introdução .....	22
2. Material e métodos.....	22
2.1 Questões éticas.....	22
2.2 Aves, desenho experimental e dietas .....	23
2.3 Desempenho e características da carcaça .....	25
2.4 Análise estatística e cálculos de equivalência da EM .....	25
3. Resultados .....	26
4. Discussão .....	28
5. Conclusão.....	29
6. Referências .....	30
<b>Capítulo 2</b> .....	35
Resumo.....	35
1. Introdução .....	36
2. Material e métodos.....	36
2.1 Questões éticas.....	36
2.2 Aves, desenho experimental e dietas .....	37
2.3 Desempenho e características da carcaça .....	39
2.4 Determinação do nível de transcrição de mRNA.....	39
2.5 Análise estatística.....	40
3. Resultados .....	40
4. Discussão .....	43
5. Conclusão.....	47
6. Referências .....	47
<b>Conclusão geral</b> .....	52
Anexos.....	53

## **Introdução Geral**

O Brasil se destaca no cenário mundial de produção, exportação e consumo de carne de frango. No ano de 2022, a produção alcançou o valor de 14,5 milhões de toneladas, com 66,80% dessa produção destinada ao mercado interno, representando uma média de 45,2 kg/habitante, enquanto os restantes 33,20 % foram direcionados para exportação (ABPA, 2023). Esse sucesso na indústria avícola pode ser atribuído, em parte, aos avanços nos programas nutricionais, destacando o uso da suplementação de aditivos compostos bioativos, considerada uma estratégia benéfica, uma vez que esses produtos são adicionados à dieta com o objetivo de melhorarem a qualidade dos alimentos, o desempenho, a saúde, a qualidade da carne e a composição corporal dos animais (Choi et al., 2023; Mandey e Sompie, 2021).

Nesse contexto, serão discutidos o uso do ácido guanidinoacético (AGA) e da lignina na nutrição de frangos de corte, considerando suas características, mecanismo de ação e evidências científicas de eficácia em relação ao desempenho produtivo e às características fisiológicas.

### **Ácido guanidinoacético**

O AGA é um produto utilizado como aditivo zootécnico nas dietas das aves, agindo como substrato imediato para a biossíntese da creatina (CREA). A forma fosforilada da creatina (PCREA) serve como reserva rapidamente mobilizável de fosfatos de alta energia no músculo esquelético, permitindo a reciclagem do trifosfato de adenosina e reposição dos níveis de energia celular (Khajali e Rademacher-Heilshorn, 2020).

Vranes et al. (2017) avaliando as características físico-químicas do AGA e da CREA, observaram que o AGA apresenta maior estabilidade térmica, levando a conclusão que o grupo metil adicionado na molécula de CREA durante o metabolismo reduz a estabilidade térmica e aumenta sua solubilidade em água. Portanto, se as rações suplementadas com CREA forem submetidas ao processamento de peletização, expondo-a a uma temperatura de  $\pm 70$  °C, resultaria em perda de sua atividade devido à reação em sua estrutura, liberando água. Além disso, o AGA é menos oneroso do que a CREA (Michiels et al., 2012), validando sua suplementação nas dietas das aves.

De acordo com Tossenberger et al. (2016), o AGA possui alta biodisponibilidade, alcançando aproximadamente 100% de absorção (99,4% com 0,6g/kg na dieta e 98,77% com 6g de AGA/kg na dieta) em frangos de corte. No entanto, a verdadeira biodisponibilidade do AGA é afetada negativamente a medida que a concentração na dieta aumenta, devido a

mecanismos similares aos dos aminoácidos, pois o organismo não possui capacidade de grande estocagem, então o excesso de AGA, assim como de CREA e creatinina, é excretado via urina.

O AGA é produzido pelo organismo das aves, iniciando sua síntese nos rins e no pâncreas por meio de uma reação bioquímica catalisada pela L-argina:glicina amidinotransferase (AGAT). A regulação ocorre por meio de um *feedback* negativo que envolve as concentrações séricas de CREA e ornitina na atividade da AGAT. Após a formação do AGA, este é transportado via corrente sanguínea diretamente para o fígado, onde ocorre uma metilação, convertendo-o em CREA. Esse processo envolve a S-adenosil-L-metionina (SAM) como cofator enzimático doador do grupo metil e pela ação mediadora da enzima guanidinoacetato N-metiltransferase (GAMT). A CREA produzida é transferida para os tecidos musculares, onde, por meio do sistema CREA/PCREA, serve como uma reserva de rápida mobilização de fosfato para as células, contribuindo na reciclagem de ATP a partir de ADP diretamente nos locais onde a energia é necessária (Khajali e Rademacher-Heilshorn, 2020). A PCREA sai da mitocôndria e difunde-se através do citosol até os locais que necessitam de ATP, onde as isoenzimas creatina quinase (CK) atuam na fosforilação das respectivas ATPases. Isso é crucial para o transporte eficiente de fosfatos de alta energia, e a CREA difunde-se novamente para as mitocôndrias, fechando o ciclo (Wyss e Kaddurah-Daouk, R. 2000).

Devido ao seu papel central na transferência de energia celular, a PCREA é encontrada em altas concentrações nos tecidos musculares. No entanto, quando ultrapassa a capacidade de armazenamento, ela induz a um ciclo de *feedback* negativo na síntese endógena de CREA, provavelmente para conservar os aminoácidos arginina e metionina para sínteses de proteínas no organismo (DeGroot et al., 2018). No entanto, a formação de creatinina a partir da CREA é um processo irreversível. Como a creatinina não possui valor nutricional, ela é transportada para os rins via corrente sanguínea e excretada via urina (Tossenberger et al., 2016; De Groote et al., 2018).

O aminoácido arginina é considerado essencial para aves, o que significa que para suprir a síntese de proteínas, crescimento muscular, sinalização celular, liberação de hormônios, empenamento e outras sínteses biológicas dependem da ingestão dietética deste aminoácido. Em caso de deficiência de arginina, o desempenho das aves pode ser comprometido, levando a níveis interrompidos de metabólitos de energia, como fosfocreatina e CREA. Portanto, uma vez suplementadas as dietas das aves com o AGA, e considerando que o seu único destino fisiológico será a formação da CREA, a arginina será poupada. Isso significa que ela poderá contribuir em outras vias metabólicas no organismo das aves (DeGroot et al., 2018; Portocarero e Braun. 2021).

No estudo de Michiels et al. (2012), ao avaliar a suplementação de AGA (0,6 ou 1,2 g/kg) em frangos de corte, observou-se que esses apresentaram concentrações de fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1) duas vezes maiores em comparação ao grupo sem suplementação com AGA. Além disso, a concentração de CREA no músculo do peito aumentou em 11,1% e 15,7% em frangos alimentados com 0,6 e 1,2 g/kg de AGA, respectivamente. Isso reitera a ideia que o AGA funciona com um efeito anabólico, mediado pela regulação positiva da expressão muscular de IGF-1. Esses resultados destacam o papel do IGF-1 na proliferação e diferenciação de células musculares e síntese de proteínas.

A suplementação do AGA aumenta as concentrações de CREA muscular, potencializando e melhorando o metabolismo energético em todos os tecidos musculares (Lemme et al., 2007). A energia é um componente crucial nas dietas, e uma das formas mais comuns de atendê-la é pela inclusão de óleo de soja, e o preço deve ser avaliado, pois pode tornar a dieta mais onerosa. No estudo conduzido por Fosoul et al. (2018), ao utilizar duas dietas basais, padrão e com redução de energia metabolizável aparente (EMA) em dietas para frangos de corte, com a suplementação de 0,6 ou 1,2 g/kg de AGA, o grupo que recebeu 1,2 g/kg de AGA e com redução da EMA apresentou melhorias significativa no ganho de peso nas três fases de vida (inicial, crescimento e terminação). Esses achados são consistentes com o estudo de Lemme et al. (2007), que observaram melhorias no ganho de peso, no consumo de ração e na conversão alimentar em frangos de corte machos e fêmeas alimentados com dietas vegetais e suplementadas com 0,6 ou 1,2 g/kg de AGA.

Na pesquisa de Fosoul et al. (2018), observou-se que a taxa de deposição proteica foi maior do que a de gordura no estágio inicial de vida das aves, indicando uma melhoria de utilização da energia no organismo. Nesse sentido, a suplementação de AGA melhorou o crescimento e retenção de energia na carcaça das aves alimentadas com dietas com redução de EMA. Isso sugere que a suplementação de AGA é uma fonte de energia líquida para maior taxa de crescimento muscular do que para manutenção, uma vez que a capacidade da fosfocreatina em produzir ATP está diretamente ligada a afetar positivamente o peso final do animal. Em um estudo realizado por Tabatabae et al. (2017), verificou-se um aumento de concentração dos metabolitos de fosfatos (CREA, ATP/ADP e fosfocreatina PCr/ATP) no músculo do peito, resultando em melhor rendimento de carne, e melhor desempenho dos animais que receberam suplementação de AGA em dietas com diferentes níveis de EM, ou seja, potencialmente apresentou um estímulo no metabolismo de energia celular.

O AGA é um aditivo promissor para melhorar a eficiência energética no organismo das aves, devido sua capacidade de melhorar o crescimento e o desenvolvimento muscular, promovendo um melhor desempenho das aves (Khajali e Rademacher-Heilshorn, 2020).

### **Lignina purificada**

A lignina é um componente natural da parede celular das plantas, conferindo suporte estrutural, impermeabilidade e resistência ao ataque microbiano. É extraída como resíduo das indústrias de papel e celulose, separada por processos químicos, como o sulfito, alcell ou kraft, para produção da lignina purificada (Baurhoo et al., 2008). No processamento sulfito, utiliza-se o ácido sulfúrico, enquanto no método alcell faz o uso de etanol, já no kraft, são utilizados hidróxido de sódio e sulfeto de sódio para extrair a lignina da celulose nas fibras de madeira, sendo este método responsável por cerca de 85% da produção total de lignina purificada no mundo (Tejado et al. 2007).

As ligninas purificadas são caracterizadas como compostos fenólicos de baixo peso molecular que possuem propriedades biológicas distintas das ligninas nativas, incluindo a capacidade anti-inflamatória, anticancerígena, antimicrobiana, prebiótica e antioxidante (Ayyachamy et al. 2013; Nunes et al. 2022). Os compostos fenólicos são definidos como uma ampla variedade de substâncias que possuem um ou mais anéis aromáticos ligados a pelo menos um radical hidroxila (Oliveira e Bastos, 2011).

Ainda são escassos os estudos publicados que determinam os efeitos da inclusão desses compostos em dietas para frangos de corte, bem como sua ação prebiótica e seu impacto na saúde animal, no desenvolvimento e estrutura do trato gastrointestinal, no perfil das bactérias intestinais e na produtividade das aves (Bogusławska-Tryk et al., 2020; Leite et al., 2024). Portanto, busca-se entender o uso da lignina purificada na nutrição das aves devido às diferenças em sua estrutura química comparada a outras fontes de fibras (Röhe e Zentek, 2021).

Os dados encontrados na literatura sobre o impacto da lignina no desempenho zootécnico e suas possíveis aplicações como promotor de crescimento não são consistentes. Bogusławska-Tryk et al. (2015), investigando os efeitos de níveis de lignocelulose (0,25%, 0,5% e 1,0%) em comparação com um grupo controle de frangos de corte até 42 dias de vida, não observaram efeito significativo no ganho de peso e na conversão alimentar. Outros estudos utilizando níveis semelhantes de lignina aos mencionados acima, também não demonstraram efeitos significativos para o desempenho (Kheravii et al., 2017; Zeitz et al., 2019; Röhe et al., 2020; Nunes et al., 2022). Entretanto, nos estudos de Makivic et al., (2019) e de Radulovic et al (2020), o nível de

0,6% de lignina purificada demonstrou melhorar o desempenho dos frangos de corte aos 42 dias. Nos estudos de Sozcu (2019) e Leite et al. (2024), o nível de 1,0% de lignina purificada teve o mesmo efeito positivo sobre o desempenho.

Enquanto a lignina nativa é considerada como uma barreira à digestibilidade dos nutrientes, a lignina purificada não representa barreira à digestão em animais não ruminantes, por essa razão, tornou-se um dos vários compostos naturais que tem recebido interesse como um aditivo natural para rações (Baurhoo et al., 2008), apresentando ação prebiótica (Leite et al., 2024), promovendo o crescimento de bactérias benéficas e melhora das estruturas morfológicas intestinais, potencialmente auxiliando no controle de patógenos (Baurhoo et al., 2008; Kheravii et al., 2017; Sozcu, 2019) representando uma alternativa ao uso comum dos antibióticos (Sanchez-Torres et al., 2022; Leite et al., 2024).

Embora o mecanismo exato de ação da lignina purificada como agente antimicrobiano ainda não está bem definido, foi sugerido por Ayyachamy et al., (2013) que os compostos fenólicos da lignina purificada causam danos à membrana celular das bactérias patogênicas, resultando subsequente liberação do conteúdo e desintegração da membrana celular. Esse efeito pode ajudar na eliminação de patógenos intestinais, sugerindo que os compostos fenólicos atuam como agentes tróficos indiretos na mucosa intestinal dos frangos, auxiliando a saúde e o desenvolvimento da mucosa, protegendo as células intestinais, modulando a microbiota intestinal (Leite et al., 2024).

Em um estudo conduzido por Baurhoo et al. (2007), a suplementação de lignina purificada (1,25%) nas dietas de frangos de corte demonstrou melhorar a integridade intestinal. Isso foi evidenciado pelo aumento na altura das vilosidades, no maior número de células caliciformes e no aumento da população de lactobacilos e bifidobactérias (bactérias benéficas) no ceco das aves, corroborando com os achados no estudo de Leite et al., (2024). O aumento das populações de lactobacilos e bifidobactérias promove melhorias na saúde intestinal, uma vez que essas bactérias competem com os patógenos por locais de ligação e produzem bacteriocinas. Essa substância resulta na atividade de despolarização da membrana citoplasmática, levando a morte das células patogênicas, agindo como compostos antimicrobianos (Kawai et al., 2004).

Uma das maiores fontes de lignina purificada é extraída da madeira de *Eucalyptus Urograndis*, sendo este produto rico em compostos fenólicos como o guaiacol e o siringol (Leite et al., 2024), considerados polifenóis naturais com capacidade de atuar na redução de radicais livres (Anouar et al., 2009). No entanto, há informações limitadas sobre a correlação entre o potencial antioxidante e o conteúdo fenólico publicados.

Os compostos fenólicos possuem a capacidade de sequestrar radicais livres, exercendo ação antioxidante, essencial para a manutenção da homeostase do organismo. Após a apresentação desses compostos no intestino, ocorre a clivagem da ligação éster dessa molécula nas células intestinais, e os ácidos livres podem seguir por duas rotas: serem absorvidos pelos enterócitos e transportados para a corrente sanguínea (na forma livre ou após degradação por enzimas digestivas) ou permanecer no cólon e sofrer metabolização adicional pela microbiota (Oliveira e Bastos, 2011).

Quando a produção de espécies reativas supera as defesas antioxidantes endógenas, ocorre o estresse oxidativo (Desbruslais e Wealleans, 2022). Os frangos de corte podem sofrer estresse oxidativo por diversas causas, incluindo estresse térmico, transporte, alta densidade populacional; os compostos fenólicos podem atuar como protetores contra o estresse oxidativo, exercendo atividade antioxidante via degradação e remoção de radicais livres, convertendo espécies reativas de oxigênio em peróxido de hidrogênio e depois em água.

Com base nos poucos estudos publicados, as respostas dos animais à lignina purificada parecem depender da dosagem, da espécie animal, do tipo e da fonte do produto de lignina. Mais pesquisas são necessárias antes de estabelecer benefícios conclusivos da lignina purificada no desempenho e na saúde animal (Baurhoo et al., 2008).

## Referências

ABPA. Associação Brasileira De Proteína Animal. Relatório Anual de 2022. Brasil, 2022. Disponível em: <<https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/04/Relatorio-Anual-2023.pdf> >. Acesso em: 03 de janeiro de 2024.

Anouar, E., Calliste, C. A., Kosinova, P., Di Meo, F., Duroux, J. L., Champavier, Y., ... & Trouillas, P. (2009). Free radical scavenging properties of guaiacol oligomers: A combined experimental and quantum study of the guaiacyl-moiety role. *The Journal of Physical Chemistry A*, 113(50), 13881-13891. <https://doi.org/10.1021/jp906285b>

Ayyachamy, M., Cliffe, F. E., Coyne, J. M., Collier, J., & Tuohy, M. G. (2013). Lignin: untapped biopolymers in biomass conversion technologies. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 3, 255-269. <https://doi.org/10.1007/s13399-013-0084-4>

Baurhoo, B., Letellier, A., Zhao, X., & Ruiz-Feria, C. A. (2007). Cecal populations of Lactobacilli and Bifidobacteria and E. coli populations after in vivo E. coli challenge in birds fed diets with purified lignin or mannanoligosaccharides. *Poultry Science*, 86, 2509-2516.

- Baurhoo, B., Phillip, L., & Ruiz-Feria, C. A. (2007). Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens. *Poultry science*, 86(6), 1070-1078. <https://doi.org/10.1093/ps/86.6.1070>
- Baurhoo, B., Ruiz-Feria, C. A., & Zhao, X. (2008). Purified lignin: Nutritional and health impacts on farm animals—A review. *Animal Feed Science and Technology*, 144(3-4), 175-184. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.10.016>
- Bogusławska-Tryk, M., Szymeczko, R., Piotrowska, A., Burlikowska, K., & Śliżewska, K. (2015). Ileal and cecal microbial population and short-chain fatty acid profile in broiler chickens fed diets supplemented with lignocellulose. *Pakistan Veterinary Journal*, 35(2):212-216. ISSN: 0253-8318 (PRINT), 2074-7764
- Choi, J., Kong, B., Bowker, B. C., Zhuang, H., & Kim, W. K. (2023). Nutritional Strategies to Improve Meat Quality and Composition in the Challenging Conditions of Broiler Production: A Review. *Animals*, 13(8), 1386. <https://doi.org/10.3390/ani13081386>
- DeGroot, A. A.; Braun, U. and Dilger, R. N. 2018. Efficacy of guanidinoacetic acid on growth and muscle energy metabolism in broiler chicks receiving arginine-deficient diets. *Poultry Science* 97:890-900. <https://doi.org/10.3382/ps/pex378>
- Desbruslais, A., & Wealleans, A. L. (2022). Oxidation in Poultry Feed: Impact on the Bird and the Efficacy of Dietary Antioxidant Mitigation Strategies. *Poultry*, 1(4), 246-277. <https://doi.org/10.3390/poultry1040022>
- Fosoul, S. S. A. S., Azarfar, A., Gheisari, A., & Khosravinia, H. (2018). Energy utilisation of broiler chickens in response to guanidinoacetic acid supplementation in diets with various energy contents. *British Journal of Nutrition*, 120(2), 131-140. <https://doi.org/10.1017/S0007114517003701>
- Kawai, Y., Ishii, Y., Arakawa, K., Uemura, K., Saitoh, B., Nishimura, J., ... & Saito, T. (2004). Structural and functional differences in two cyclic bacteriocins with the same sequences produced by lactobacilli. *Applied and environmental microbiology*, 70(5), 2906-2911. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.5.2906-2911.2004>

Khajali, F.; Lemme, A. and Rademacher-Heilshorn, M. 2020. Guanidinoacetic acid as a feed supplement for poultry. *World's Poultry Science Journal* 76:270-291. <https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1716651>

Kheravii, S. K., Swick, R. A., Choct, M., & Wu, S. B. (2017). Coarse particle inclusion and lignocellulose-rich fiber addition in feed benefit performance and health of broiler chickens. *Poultry Science*, 96(9), 3272-3281. <https://doi.org/10.3382/ps/pex123>

Leite, B. G. S, Granghelli, C. A., de Arruda Roque, F., Carvalho, R. S. B., Lopes, M. H. S., Pelissari, P. H., ... & Araújo, L. F. (2024). Evaluation of dietary lignin on broiler performance, nutrient digestibility, cholesterol and triglycerides concentrations, gut morphometry and lipid oxidation. *Poultry Science*, 103518. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103518>

Lemme, A., Ringel, J., Sterk, A., & Young, J. F. (2007). Supplemental guanidino acetic acid affects energy metabolism of broilers. In *World Poultry Science Association, Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition, Strasbourg, France, 26-30 August, 2007* (pp. 339-342). World's Poultry Science Association (WPSA).

Makivić, L., Glišić, M., Bošković, M., Đorđević, J., Marković, R., Baltić, M. Ž., & Šefer, D. (2019). Performances, heal and cecal microbial populations and histological characteristics in broilers fed diets supplemented with lignocellulose. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(1), 83-91. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.20356>

Mandey, J. S., & Sompie, F. N. (2021). Phytogetic feed additives as an alternative to antibiotic growth promoters in poultry nutrition. *Adv. Stud. 21st Century Anim. Nutr*, 8, 19. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99401>

Michiels, J., Maertens, L., Buyse, J., Lemme, A., Rademacher, M., Dierick, N. A., & De Smet, S. (2012). Supplementation of guanidinoacetic acid to broiler diets: effects on performance, carcass characteristics, meat quality, and energy metabolism. *Poultry science*, 91(2), 402-412. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01585>

Nunes, R. A., Albino, L. F. T., Campos, P. H. R. F., Salgado, H. R., Borges, S. O., Ferreira, R. D. S., ... & Calderano, A. A. (2022). Purified lignin supplementation on the performance and antioxidant status of broilers subjected to cyclic heat stress. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 51, e20210154. <https://doi.org/10.37496/rbz5120210154>

- Oliveira, D. M. D., & Bastos, D. H. M. (2011). Phenolic acids bioavailability. *Química Nova*, 34, 1051-1056. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600023>
- Portocarero, N. & Braun, U. 2021. The physiological role of guanidinoacetic acid and its relationship with arginine in broiler chickens. *Poultry Science* 100:101203. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101203>
- Radulovic, S., Sefer, D., Jovanovic, D., Peric, D., Boskovic, S., Markovic, R., ... & Grdovic, S. (2020). Effects of purified lignocellulose on health and production results of broilers. *Agriculture and Food*, 8(1). ISSN: 1314-8591 <https://vet-erinar.vet.bg.ac.rs/handle/123456789/2621>
- Röhe, I., & Zentek, J. (2021). Lignocellulose as an insoluble fiber source in poultry nutrition: a review. *Journal of animal science and biotechnology*, 12(1), 82. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00594-y>
- Röhe, I., Metzger, F., Vahjen, W., Brockmann, G. A., & Zentek, J. (2020). Effect of feeding different levels of lignocellulose on performance, nutrient digestibility, excreta dry matter, and intestinal microbiota in slow growing broilers. *Poultry science*, 99(10), 5018-5026. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.053>
- Sánchez-Torres, L., Macias-Flores, M., Gutiérrez-Arenas, D., Arredondo-Castro, M., Valencia-Posadas, M., & Avila-Ramos, F. (2022). Fibra como prebiótico para aves de producción: una revisión. *Abanico veterinario*, 12. <https://doi.org/10.21929/abavet2022.24>
- Sozcu, A. (2019). Growth performance, pH value of gizzard, hepatic enzyme activity, immunologic indicators, intestinal histomorphology, and cecal microflora of broilers fed diets supplemented with processed lignocellulose. *Poultry science*, 98(12), 6880-6887. <https://doi.org/10.3382/ps/pez449>
- Tabatabaei Yazdi, F., Golian, A., Zarghi, H., & Varidi, M. (2017). Effect of wheat-soy diet nutrient density and guanidine acetic acid supplementation on performance and energy metabolism in broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 16(4), 593-600. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1305260>
- Tejado, A., Pena, C., Labidi, J., Echeverria, J. M., & Mondragon, I. (2007). Physico-chemical characterization of lignins from different sources for use in phenol-formaldehyde resin

synthesis. *Bioresource technology*, 98(8), 1655-1663.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.042>

Tossenberger, J., Rademacher, M., Németh, K., Halas, V., & Lemme, A. J. P. S. (2016). Digestibility and metabolism of dietary guanidino acetic acid fed to broilers. *Poultry Science*, 95(9), 2058-2067. <https://doi.org/10.3382/ps/pew083>

Vranes, M., S. Ostojic, A. Tot, S. Papovic, and S. Gadzuric. 2017. "Experimental and Computational Study of Guanidinoacetic Acid Self-aggregation in Aqueous Solution." *Food Chemistry* 237: 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.088>

Wyss, M., & Kaddurah-Daouk, R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. *Physiological reviews*. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.1107>

Zeitz, J. O., Neufeld, K., Potthast, C., Kroismayr, A., Most, E., & Eder, K. (2019). Effects of dietary supplementation of the lignocelluloses FibreCell and OptiCell on performance, expression of inflammation-related genes and the gut microbiome of broilers. *Poultry science*, 98(1), 287-297. <https://doi.org/10.3382/ps/pey345>

**CAPÍTULO 1:****EQUIVALÊNCIA EM ENERGIA METABOLIZÁVEL DO ÁCIDO  
GUANIDINOACÉTICO EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE À BASE DE  
MILHO E FARELO DE SOJA**

Hallef Rieger Salgado<sup>1</sup>, Gabriel Cipriano Rocha<sup>1,2</sup>, Tiago Goulart Petrolli<sup>3</sup>, Marlene Schmidt<sup>4</sup>,  
Jose Antônio Rivera<sup>5</sup>, Rayanne Andrade Nunes<sup>1</sup>, Samuel Oliveira Borges<sup>1</sup>, Arele Arlindo  
Calderano<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, Viçosa, MG, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Viçosa, Laboratório Multiusuário de Biologia Muscular e  
Nutrigenômica, Viçosa, MG, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade do Oeste de Santa Catarina, Departamento de Zootecnia, Xanxerê, SC, Brasil.

<sup>4</sup> NutriQuest Nutrição Animal, Campinas, SP, Brasil.

<sup>5</sup> AlzChem GmbH, Trostberg, Germany

**Publicado na Revista Brasileira de Zootecnia (Brazilian Journal of Animal Science) R.  
Bras. Zootec., 52:e20220071, 2023**

Histórico do artigo:

Recebido: 18 de maio de 2022

Aceito: 03 de fevereiro de 2023

<https://doi.org/10.37496/rbz5220220071>

## RESUMO

Neste estudo, avaliamos como a adição de ácido guanidinoacético (AGA) em dietas com vários teores de energia metabolizável (EM) afeta o desempenho de frangos de corte. Também estimamos a equivalência do AGA em EM. Distribuímos 1280 frangos de corte de um dia de idade, em um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos, oito repetições e vinte aves por unidade experimental. Os tratamentos foram baseados nos níveis de EM (2775-2875-2975 kcal/kg; 2850-2950-3050 kcal/kg; 2925-3025-3125 kcal/kg; ou 3000-3100-3200 kcal/kg, dos 1 a 7, 8 a 21 e 22 a 42 dias de idade) e a inclusão de AGA (0 ou 600 mg/kg). A suplementação de AGA aumentou o ganho de peso em frangos de corte no nível de energia de 2908 kcal/kg e melhorou a taxa de conversão alimentar (CA) nos níveis de energia de 2908 e 2983 kcal/kg. Houve uma redução linear no consumo de ração e uma melhora na CA dos frangos de corte com o aumento dos níveis de energia nas dietas, com e sem adição de AGA. Resolvendo a equação de equivalência, aplicando cada um dos níveis médios ponderados de energia estudados, indica-se a equivalência de AGA de 133, 103, 74 e 44 kcal/kg de ração. Em conclusão, a suplementação de AGA melhora a eficiência de utilização de energia dos frangos de corte; a equivalência média de EM de 600 mg/kg de AGA é de 88,5 kcal/kg.

Palavras-chave: aves, creatina, desempenho

## 1. Introdução

O ácido guanidinoacético (AGA), nome comum do N- (aminoimino-metil) - glicina, é o precursor da creatina, que, junto com a fosfocreatina, está envolvido no metabolismo energético celular através da regeneração do trifosfato de adenosina (ATP; Portocarero e Braun, 2021). O AGA é metilado para creatina pela ação da enzima S-adenosilL-metionina: N-guanidinoacetato metiltransferase, que, em aves, também é expressa nos rins, assim como no fígado (Van Pilsum et al., 1972). A suplementação de AGA para frangos de corte promove a melhoria do desempenho, aumenta o rendimento de carne de peito e melhora a taxa de conversão alimentar (Oviedo-Rondón e Córdova-Noboa, 2020; Zarghi et al., 2020; de Souza et al., 2021).

Esses efeitos podem estar parcialmente relacionados a aumentos significativos nos metabólitos de energia com alto teor fosfato no músculo (DeGroot et al., 2018; Majdeddin et al., 2020). Além disso, melhorias na utilização de energia pelas aves têm sido associadas a uma melhor utilização dos alimentos (Khajali et al., 2020).

A síntese de AGA requer os aminoácidos glicina e arginina como precursores. Vários estudos em frangos de corte foram realizados para explorar o potencial do AGA como um "poupador" de arginina (Ale Saheb Fosoul et al., 2019; DeGroot et al., 2019). Outros estudos demonstraram que a suplementação de AGA pode melhorar a eficiência de uso de energia em frangos de corte (Mousavi et al., 2013; Ale Saheb Fosoul et al., 2018). Em dietas para aves a energia é o componente mais caro, representando 70% do custo da ração (Pirgozliev e Rose, 1999; Noblet et al., 2022). No entanto, de acordo com Khajali et al., (2020), a equivalência do AGA em energia metabolizável (ME) em dietas para frangos de corte precisa ser determinada. Os primeiros estudos com energia reduzida em dietas para frangos de corte mostraram que a suplementação de AGA pode contribuir com o equivalente a 47,8 kcal/kg de EM (Çenesiz et al., 2020) e 50,0 kcal/kg de EM (Ceylan et al., 2021).

Neste estudo, nós hipotetizamos que a suplementação de AGA pode melhorar a eficiência de uso de energia e, conseqüentemente, o desempenho de frangos de corte. Portanto, avaliamos como a adição de AGA em dietas com vários teores de energia afeta o desempenho de frangos de corte; também estimamos uma equivalência em EM de AGA.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Questões éticas

O Comitê Institucional de Cuidado e Uso de Animais aprovou todos os procedimentos de manejo de animais (caso número 34/2020), e o experimento foi conduzido de acordo com o

protocolo experimental para o uso de aves vivas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

## 2.2 Aves, desenho experimental e dietas

O experimento foi conduzido em Viçosa, MG, Brasil (20°45'57.19" S, 42°51'35.42" W e 682 m de altitude). Os frangos de corte machos (Cobb 500®) utilizados no experimento foram obtidos de um incubatório comercial (Rivelli Alimentos SA, Matheus Leme, MG, Brasil). Os pintinhos foram vacinados contra doença de Gumboro e doença de Marek (Sorotipo 3, Vacina Viva contra a Doença de Marek, Merial Inc., Athens, GA).

Com base no peso corporal, distribuimos um total de 1280 frangos de corte de um dia de idade a um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos, oito repetições e vinte aves por unidade experimental. As aves foram alojadas em 64 boxes no chão (2 m<sup>2</sup>), cada um equipado com quatro bebedouros tipo *nipple* e um comedouro de ração.

As dietas à base de milho e farelo de soja foram formuladas atendendo às recomendações nutricionais propostas por Rostagno et al., (2017) de acordo com a fase, exceto pelos níveis de EM (Tabela 1). As dietas basais continham 2775, 2875 e 2975 kcal/kg nas fases de 1 a 7, 8 a 21 e 22 a 42 dias, respectivamente. Os tratamentos foram baseados em quatro níveis de EM por fase (Tabela 2) e a inclusão de 0 ou 600 mg/kg de AGA (CreAMINO®, mínimo de 96% de AGA, AlzChem, Trostberg, Alemanha). Os aumentos nos níveis de EM das dietas basais foram de 75, 150 e 225 kcal/kg com base nos tratamentos experimentais. Esses aumentos na densidade energética foram realizados exclusivamente com a adição de óleo de soja em vez do inerte. A adição de AGA às dietas experimentais também foi realizada em lugar do inerte. As dietas foram preparadas na forma de ração farelada. As aves tiveram acesso livre à água e à ração durante todo o período experimental (de 1 a 42 dias de idade) e foram expostas a 24 horas de luz de 1 a 14 dias de idade, após um ciclo de 18 horas de luz: 6 horas de escuridão foi implementado até o final do experimento.

Tabela 1 - Ingredientes e composição de nutrientes das dietas basais

Ingredientes (g/kg)	Idade (dias)		
	1 a 7	8 a 21	22 a 42
Milho, 7,86%	459,46	493,24	596,75
Farelo de soja 45,0%	447,01	410,72	317,33
Óleo de soja	21,81	29,92	25,72
Fosfato bicálcico	19,97	16,83	13,24
Calcário	9,56	8,39	6,92
Sal	5,38	5,16	4,80
DL- Metionina, 999 g/kg	3,54	3,25	2,68
L-Lisina HCl, 780 g/kg	1,81	1,53	2,02
Premix Vitamínico <sup>1</sup>	1,50	1,30	1,20
Premix Mineral <sup>2</sup>	1,40	1,20	1,00
Cloreto de colina, 600 g/kg	1,00	1,00	0,80
L-Treonina, 985 g/kg	0,66	0,58	0,53
L-Valina, 990 g/kg	0,15	0,13	0,26
Coccidiostático <sup>3</sup>	0,55	0,55	0,55
Inerte	26,20	26,20	26,20
Composição calculada (g/kg)			
Energia Metabolizável EM , (Kcal/Kg)	2775	2875	2975
Proteína Bruta	243,4	229,1	195,0
Cálcio	10,11	8,78	7,05
Fósforo disponível	4,82	4,19	3,41
Sódio	2,27	2,18	2,30
Glicina + Serina digestível	19,65	18,46	15,49
Lisina digestível	13,64	12,56	10,77
Metionina + Cisteína digestível	9,89	9,29	7,97
Valina digestível	10,29	9,67	8,29
Treonina digestível	8,82	8,29	7,11
Triptofano digestível	2,82	2,64	2,17

<sup>1</sup> Premix Vitamínico por quilograma continha: vitamina A, 9.637.000 UI; vitamina D3, 2.409.000 UI; vitamina E, 36.100 UI; vitamina K3, 1.930 mg; vitamina B1, 2.590 mg; vitamina B12, 15,9 mg; vitamina B6, 3.610 mg; vitamina B5, 12,95 g; vitamina B3, 39,2 g; vitamina B9, 903 mg; biotina, 89,8 mg.

<sup>2</sup> Premix mineral por quilograma continha: Mn, 58,36 g; Zn, 54,21 g; Fe, 41,68 g; Cu, 8,31 g; I, 843 mg; Se, 250 mg.

<sup>3</sup> Salinomicina 12%

Tabela 2 - Tratamentos experimentais

Ácido guanidinoacético (mg/kg)	Idade (dias)			Média ponderada 1 a 42
	1 a 07	8 a 21	22 a 42	
0	2775 kcal	2875 kcal	2975 kcal	2908 kcal
0	2850 kcal	2950 kcal	3050 kcal	2983 kcal
0	2925 kcal	3025 kcal	3125 kcal	3058 kcal
0	3000 kcal	3100 kcal	3200 kcal	3133 kcal
600	2775 kcal	2875 kcal	2975 kcal	2908 kcal
600	2850 kcal	2950 kcal	3050 kcal	2983 kcal
600	2925 kcal	3025 kcal	3125 kcal	3058 kcal
600	3000 kcal	3100 kcal	3200 kcal	3133 kcal

### 2.3 Desempenho e características da carcaça

As aves e as sobras de ração foram pesadas aos 42 dias de idade para calcular o consumo de ração (CR), o ganho de peso (GP) e a CA. As mortalidades foram registradas ao longo do período experimental, e as correções necessárias dos dados de desempenho foram calculadas.

Aos 42 dias de idade, duas aves com pesos mais próximos do peso médio de sua respectiva unidade experimental foram selecionadas. Após 8 horas de jejum, esses frangos foram eutanasiados e abatidos para medir o rendimento de carcaça, peito e coxa com sobrecoxa, bem como o peso relativo da gordura abdominal. O rendimento da carcaça foi calculado em relação ao peso vivo antes do abate ( $\text{peso da carcaça} \times 100/\text{peso vivo}$ ) e o rendimento do peito e da coxa com sobrecoxa em função do peso da carcaça ( $\text{peso da parte} \times 100/\text{peso da carcaça}$ ). O peso relativo da gordura abdominal foi calculado em relação ao peso vivo das aves antes do abate.

### 2.4 Análise estatística e cálculos de equivalência da EM

Para cada variável, a análise de variância foi realizada de acordo com o seguinte modelo geral:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij},$$

Em que  $Y_{ij}$  é a variável dependente medida,  $\mu$  é a média geral,  $\alpha_i$  é o efeito dos tratamentos e  $\varepsilon_{ij}$  é o erro aleatório.

As análises foram realizadas utilizando o PROC GLM do SAS (Sistema de Análise Estatística, versão 9.4). A significância dos efeitos foi testada no nível de 5% probabilidade. Para avaliar o efeito da inclusão de AGA em cada nível de energia, foram realizadas análises de contraste. Equações lineares para os níveis de energia com ou sem suplementação de AGA também foram estimadas usando o PROC REG do SAS. A significância para cada um dos parâmetros do modelo de regressão foi testada no nível de probabilidade de 5% usando o teste t de Student.

A equivalência da EM do AGA foi estimada com metodologia adaptada de Jendza et al., (2006) e Stefanello et al., (2017). Os efeitos lineares do aumento da EM em dietas com ou sem adição de AGA foram testados. Equações de regressão dos níveis de EM foram geradas para CA, e uma equação de equivalência foi obtida igualando as duas equações lineares estimadas da seguinte forma:

$Y = a + bX_1$  (resposta da CA de acordo com os níveis de EM em dietas com AGA)

$Y = a + bX_2$  (resposta da CA de acordo com os níveis de EM em dietas sem AGA)

Equação de equivalência:

$$a + bX_2 = a + bX_1$$

em que Y é a resposta da CA;  $X_1$  é o nível de EM nas dietas com AGA;  $X_2$  é o nível de EM em dietas sem AGA; a é o intercepto em cada respectiva equação; e b é a inclinação em cada respectiva equação.

A equação de equivalência foi resolvida substituindo as médias ponderadas dos níveis de energia estudados em  $X_1$  e obtendo  $X_2$ . A equivalência em EM do AGA foi estimada em cada nível de energia estudado subtraindo  $X_1$  de  $X_2$ , e a média das estimativas foi calculada.

### 3. Resultados

Não houve efeito da suplementação de AGA no CR de frangos de corte em nenhum dos níveis de energia estudados ( $P > 0,05$ ; Tabela 3). No entanto, a suplementação de AGA aumentou o GP dos frangos no nível de energia de 2908 kcal/kg ( $P = 0,036$ ) e melhorou a CA nos níveis de energia de 2908 kcal/kg ( $P = 0,004$ ) e 2983 kcal/kg ( $P = 0,049$ ). Em relação aos níveis de energia, houve uma redução linear no CR dos frangos com o aumento dos níveis de energia nas dietas sem ( $P = 0,015$ ) e com ( $P = 0,018$ ) adição de AGA (Tabela 4). A CA melhorou linearmente com o aumento dos níveis de energia nas dietas sem ( $P < 0,001$ ) e com ( $P = 0,008$ ) AGA. Resolvendo a equação de equivalência (aplicando os níveis médios ponderados de energia estudados) a equivalência de EM do AGA foi de 133, 103, 74 e 44 kcal/kg de ração, com equivalência média de 88,5 kcal/kg (Tabela 5).

O rendimento de carcaça, peito e coxas com sobrecoxa, e a gordura abdominal das aves não foram influenciados pela suplementação de AGA em nenhum dos níveis de energia estudados ( $P > 0,05$ ; Tabela 6); esses parâmetros também não foram afetados pelos níveis de energia nas dietas ( $P > 0,05$ ).

Tabela 3 - Desempenho de crescimento de frangos de corte do 1 aos 42 dias de idade

	AGA (mg/kg)	Nível de energia (kcal/kg) <sup>1</sup>				Linear P-valor
		2908	2983	3058	3133	
CR (kg/ave)	0	5,246	5,208	5,134	5,122	0,015
	600	5,234	5,169	5,140	5,100	0,018
	SEM	0,025	0,035	0,030	0,021	
	P-Valor	0,805	0,585	0,921	0,603	
GP (kg/ave)	0	3,026 b	3,062	3,084	3,106	0,069
	600	3,115 a	3,117	3,116	3,139	0,605
	SEM	0,019	0,031	0,020	0,016	
	P-Valor	0,036	0,391	0,423	0,314	
CA	0	1,734 a	1,701 a	1,665	1,649	<0,001
	600	1,680 b	1,658 b	1,650	1,625	0,008
	SEM	0,008	0,010	0,014	0,008	
	P-Valor	0,004	0,049	0,567	0,135	

AGA- ácido guanidinoacético; CR - consumo de ração; GP - ganho de peso corporal; CA - taxa de conversão alimentar; SEM - erro padrão da média (n = 8 para tratamento).

<sup>1</sup> Média ponderada da energia metabolizável calculada a partir dos seguintes valores: 2,775-2,875-2,975 kcal/kg; 2,850-2,950-3,050 kcal/kg; 2,925-3,025-3,125 kcal/kg; 3,000-3,100-3,200 kcal/kg, de 1 a 7, de 8 a 21 e de 22 a 42 dias de idade, respectivamente.

Médias dentro de cada coluna seguidas por letras diferentes diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 4 - Equações de regressão linear estimadas para cada variável na resposta dos níveis de energia com ou sem suplementação de ácido guanidinoacético (AGA)

AGA (mg/kg)	Equação de Regressão	SE Intercepto	P-Valor Intercepto	SE Slope	P-Valor Inclinação	r <sup>2</sup>	
CR	600	Y = 6,89883 – 0,0005755X <sub>1</sub>	0,69392	<0,001	0,0002 2965	0,018	0,17
	0	Y = 6,97577 – 0,00059533X <sub>2</sub>	0,69719	<0,001	0,0002 3073	0,015	0,18
CA	600	Y = 2,36209 – 0,0002345X <sub>1</sub>	0,24917	<0,001	0,0000 8246	0,008	0,21
	0	Y = 2,85391 – 0,000386X <sub>2</sub>	0,25028	<0,001	0,0000 8283	<0,001	0,42

CR – Consumo de ração; CA – Taxa de conversão alimentar; SE – Erro padrão.

Tabela 5 - Equação de equivalência para conversão alimentar (CA) e para estimar a equivalência energética do ácido guanidinoacético (AGA)

Equação de equivalência para CA <sup>1</sup>	Níveis de energia (kcal/kg)			
	X <sub>1</sub>			
2,85391 – 0,000386X <sub>2</sub> = 2,36209 – 0,0002345X <sub>1</sub>	2.908	2.983	3.058	3.133
	X <sub>2</sub>			
	3.041	3.086	3.132	3.177
Equivalência energética do AGA	X <sub>2</sub> - X <sub>1</sub>			
	133	103	74	44

<sup>1</sup> A equação de equivalência foi obtida igualando as duas equações lineares estimadas para a CA. A equação de equivalência foi resolvida substituindo os níveis de energia médios ponderados estudados em X<sub>1</sub> e obtendo X<sub>2</sub>. A equivalência de EM do AGA foi estimada em cada nível estudado subtraindo X<sub>1</sub> de X<sub>2</sub>.

Tabela 6 - Rendimento de carcaça, gordura abdominal (% do peso vivo), peito e coxas com sobrecoxa (% da carcaça) de frangos de corte aos 42 dias de idade

	AGA (mg/kg)	Níveis de energia (kcal/kg) <sup>1</sup>				Linear P- valor
		2908	2983	3058	3133	
Carcaça (%)	0	81,18	80,60	81,15	80,17	0,313
	600	81,83	81,00	80,79	80,92	0,26
	SEM	0,39	0,39	0,49	0,32	
	P-Valor	0,419	0,617	0,718	0,262	
Peito (%)	0	37,11	37,32	35,67	36,04	0,373
	600	37,34	37,17	36,95	36,69	0,071
	SEM	0,34	0,42	0,52	0,31	
	P-Valor	0,731	0,861	0,234	0,311	
Coxa com sobrecoxa (%)	0	25,71	25,85	24,33	25,92	0,738
	600	25,53	26,03	25,60	25,94	0,550
	SEM	0,18	0,22	0,55	0,19	
	P-Valor	0,617	0,692	0,263	0,962	
Gordura abdominal (%)	0	0,76	0,80	0,89	0,83	0,312
	600	0,81	0,79	0,75	0,81	0,968
	SEM	0,06	0,04	0,05	0,04	
	P-Valor	0,705	0,896	0,158	0,877	

AGA - ácido guanidinoacético; SEM - erro padrão da média (n = 8 para tratamento).

<sup>1</sup> Média ponderada de energia metabolizável calculada a partir dos seguintes valores: 2,775-2,875-2,975 kcal/kg; 2,850-2,950-3,050 kcal/kg; 2,925-3,025-3,125 kcal/kg; 3,000-3,100-3,200 kcal/kg, de 1 a 7, de 8 a 21 e de 22 a 42 dias de idade, respectivamente.

#### 4. Discussão

Neste estudo, nós hipotetizamos que a suplementação de AGA pode melhorar a eficiência do uso de energia dos frangos de corte. Isso foi confirmado pela melhoria no GP e na CA dos frangos alimentados com dietas com os dois níveis de energia mais baixos estudados. De acordo com as recomendações do NRC (1994), juntamente com padrões mais recentes adotados pelo setor avícola brasileiro (Rostagno et al., 2017), esses níveis de EM são um fator limitante para o desempenho. As melhorias no GP e na CA podem ser explicadas por níveis mais altos de creatina e fosfocreatina e pelas maiores proporções de ATP:ADP e fosfocreatina:ATP nos músculos de frangos alimentados com dietas com AGA (Yazdi et al., 2017; DeGroot et al., 2018; Majdeddin et al., 2020); esses parâmetros melhorados indicam um metabolismo energético mais eficiente. As proporções de fosfocreatina: ATP nos músculos do peito dos frangos foram relatadas como sendo de 28,4 e 20,3 para aqueles que receberam AGA a 600 mg/kg e para o grupo controle, respectivamente (Yazdi et al., 2017). Ale Saheb Fosoul et al., (2018) relataram que o aumento na capacidade de tamponamento do ATP nos músculos exercido pelo AGA suplementar afeta o metabolismo de energia em frangos de corte alimentados com dietas com redução de energia, resultando em uma CA melhorada. Além de

funcionar diretamente no acréscimo muscular como precursora da creatina, o AGA dietético também pode "poupar" efetivamente arginina, evitando que ela seja usada para a síntese de AGA, de modo que a arginina possa ser usada para acréscimo muscular e outras funções fisiológicas (Portocarero e Braun, 2021). Como no presente estudo, Mousavi et al., (2013) relataram que a suplementação de AGA pode potencialmente melhorar a CA e a eficiência energética dos frangos de corte.

Estudo anterior mostrou que o uso de AGA melhorou o rendimento da carne do peito, mas sem efeito sobre a carcaça e outros cortes (Córdova-Noboa et al., 2018). No presente estudo, nenhum efeito do AGA foi observado no rendimento da carcaça, peito e das coxas com sobrecoxa. Resultados semelhantes foram observados por Mousavi et al., (2013), que também avaliaram o efeito da adição de AGA a dietas contendo diferentes níveis de EM.

Com o aumento dos níveis de EM nas dietas sem e com adição de AGA, as aves reduziram seu CR. Esse resultado era esperado, com base na literatura, porque os frangos podem ajustar seu CR em resposta às suas necessidades energéticas (Leeson et al., 1996; Hu et al., 2021). Isso está vinculado à sinalização metabólica. Hu et al., (2019) relataram que a via de sinalização central da proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina e o apetite são modulados de acordo com o nível de energia na dieta para regular o estado nutricional e manter a homeostase energética em frangos de corte.

Com a redução no CR e sem efeito sobre o GP, a CA dos frangos melhorou com o aumento dos níveis de energia nas dietas com e sem adição de AGA, de acordo com vários relatos (Leeson et al., 1996; Ale Saheb Fosoul et al., 2018; Hu et al., 2021). As respostas de CA observadas neste estudo sugerem uma equivalência média de EM de 88,5 kcal/kg, diferente dos valores de 47,8 kcal/kg de EM (Çenesiz et al., 2020) e 50,0 kcal/kg de EM (Ceylan et al., 2021) observados em estudos com redução de energia em dietas e a mesma suplementação de AGA. No entanto, mais pesquisas são necessárias para validar esta EM dietética em dietas práticas.

## **5. Conclusão**

A suplementação de ácido guanidinoacético melhora a eficiência do uso de energia em frangos de corte, e a equivalência média da energia metabolizável de 600 mg/kg de ácido guanidinoacético é de 88,5 kcal/kg.

## 6. Referências

Ale Saheb Fosoul, S. S.; Azarfar, A.; Gheisari, A. and Khosravinia, H. 2018. Energy utilisation of broiler chickens in response to guanidinoacetic acid supplementation in diets with various energy contents. *British Journal of Nutrition* 120:131-140. <https://doi.org/10.1017/S0007114517003701>

Ale Saheb Fosoul, S. S.; Azarfar, A.; Gheisari, A. and Khosravinia, H. 2019. Performance and physiological responses of broiler chickens to supplemental guanidinoacetic acid in arginine-deficient diets. *British Poultry Science* 60:161-168. <https://doi.org/10.1080/00071668.2018.1562156>

Çenesiz, A. A.; Yavaş, I.; Çiftci, I.; Ceylan, N. and Taşkesen, H. O. 2020. Guanidinoacetic acid supplementation is favourable to broiler diets even containing poultry by-product meal. *British Poultry Science* 61:311-319. <https://doi.org/10.1080/00071668.2020.1720909>

Ceylan, N.; Koca, S.; Adabi, S. G.; Kahraman, N.; Bhaya, M. N. and Bozkurt, M. F. 2021. Effects of dietary energy level and guanidinoacetic acid supplementation on growth performance, carcass quality and intestinal architecture of broilers. *Czech Journal of Animal Science* 66:281-291. <https://doi.org/10.17221/11/2021-CJAS>

Córdova-Noboa, H. A.; Oviedo-Rondón, E. O.; Sarsour, A. H.; Barnes, J.; Ferzola, P.; Rademacher-Heilshorn, M. and Braun, U. 2018. Performance, meat quality, and pectoral myopathies of broilers fed either corn or sorghum based diets supplemented with guanidinoacetic acid. *Poultry Science* 97:2479-2493. <https://doi.org/10.3382/ps/pey096>

DeGroot, A. A.; Braun, U. and Dilger, R. N. 2018. Efficacy of guanidinoacetic acid on growth and muscle energy metabolism in broiler chicks receiving arginine-deficient diets. *Poultry Science* 97:890-900. <https://doi.org/10.3382/ps/pex378>

DeGroot, A. A.; Braun, U. and Dilger, R. N. 2019. Guanidinoacetic acid is efficacious in improving growth performance and muscle energy homeostasis in broiler chicks fed arginine-deficient or arginine-adequate diets. *Poultry Science* 98:2896-2905. <https://doi.org/10.3382/ps/pez036>

de Souza, C.; Eyng, C.; Viott, A. M.; Avila, A. S.; Pacheco, W. J.; Junior, N. R.; Kohler, T. L.; Tenorio, K. I.; Cirilo, E. H. and Nunes, R. V. 2021. Effect of dietary guanidinoacetic acid or nucleotides supplementation on growth performances, carcass traits, meat quality and occurrence of myopathies in broilers. *Livestock Science* 251:104659. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104659>

Fosoul, S. S. A. S., Azarfar, A., Gheisari, A., & Khosravinia, H. (2018). Energy utilisation of broiler chickens in response to guanidinoacetic acid supplementation in diets with various energy contents. *British Journal of Nutrition*, 120(2), 131-140. <https://doi.org/10.1017/S0007114517003701>

Hu, X.; Li, X.; Xiao, C.; Kong, L.; Zhu, Q. and Song, Z. 2021. Effects of dietary energy level on performance, plasma parameters, and central AMPK levels in stressed broilers. *Frontiers in Veterinary Science* 8:681858. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.681858>

Hu, X.; Wang, Y.; Sheikahmadi, A.; Li, X.; Buyse, J.; Lin, H. and Song, Z. 2019. Effects of dietary energy level on appetite and central adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) in broilers. *Journal of Animal Science* 97:4488-4495. <https://doi.org/10.1093/jas/skz312>

Jendza, J. A.; Dilger, R. N.; Sands, J. S. and Adeola, O. 2006. Efficacy and equivalency of an *Escherichia coli*-derived phytase for replacing inorganic phosphorus in the diets of broiler chickens and young pigs. *Journal of Animal Science* 84:3364-3374. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-212>

Khajali, F.; Lemme, A. and Rademacher-Heilshorn, M. 2020. Guanidinoacetic acid as a feed supplement for poultry. *World's Poultry Science Journal* 76:270-291. <https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1716651>

Leeson, S.; Caston, L. and Summers, J. D. 1996. Broiler response to diet energy. *Poultry Science* 75:529-535. <https://doi.org/10.3382/ps.0750529>

Lemme, A., Ringel, J., Sterk, A., & Young, J. F. (2007). Supplemental guanidino acetic acid affects energy metabolism of broilers. In World Poultry Science Association, Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition, Strasbourg, France, 26-30 August, 2007 (pp. 339-342). World's Poultry Science Association (WPSA).

Majdeddin, M.; Braun, U.; Lemme, A.; Golian, A.; Kermanshahi, H.; De Smet, S. and Michiels, J. 2020. Guanidinoacetic acid supplementation improves feed conversion in broilers subjected to heat stress associated with muscle creatine loading and arginine sparing. *Poultry Science* 99:4442-4453. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.023>

Mousavi, S. N.; Afsar, A. and Lotfollahian, H. 2013. Effects of guanidinoacetic acid supplementation to broiler diets with varying energy contents. *Journal of Applied Poultry Research* 22:47-54. <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00575>

Michiels, J., Maertens, L., Buyse, J., Lemme, A., Rademacher, M., Dierick, N. A., & De Smet, S. (2012). Supplementation of guanidinoacetic acid to broiler diets: effects on performance, carcass characteristics, meat quality, and energy metabolism. *Poultry science*, 91(2), 402-412. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01585>

NRC - National Research Council. 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th rev. ed. National Academies Press, Washington, DC.

Noblet, J.; Wu, S. B. and Choct, M. 2022. Methodologies for energy evaluation of pig and poultry feeds: A review. *Animal Nutrition* 8:185-203. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.06.015>

Oviedo-Rondón, E. O. and Córdova-Noboa, H. A. 2020. The potential of guanidino acetic acid to reduce the occurrence and severity of broiler muscle myopathies. *Frontiers in Physiology* 11:909. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00909>

Pirgozliev, V. and Rose, S. P. 1999, Net energy systems for poultry feeds: a quantitative review. *World's Poultry Science Journal* 55:23-36. <https://doi.org/10.1079/WPS19990003>

Portocarero, N. and Braun, U. 2021. The physiological role of guanidinoacetic acid and its relationship with arginine in broiler chickens. *Poultry Science* 100:101203. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101203>

Rostagno, H. S.; Albino, L. F. T.; Hannas, M. I.; Donzele, J. L.; Sakomura, N. K.; Perazzo, F. G.; Saraiva, A.; Teixeira, M. L.; Rodrigues, P. B.; Oliveira, R. F.; Barreto, S. L. T. and Brito, C. O. 2017. Tabelas brasileiras para suínos e aves: Composição de alimentos e exigências nutricionais. 4.ed. Departamento de Zootecnia, UFV, Viçosa, MG.

Sharma, N. K., Cadogan, D. J., Chrystal, P. V., McGilchrist, P., Wilkinson, S. J., Inhuber, V., & Moss, A. F. (2022). Guanidinoacetic acid as a partial replacement to arginine with or without betaine in broilers offered moderately low crude protein diets. *Poultry Science*, 101(4), 101692. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101692>

Stefanello, C.; Vieira, S. L.; Rios, H. V.; Simões, C. T.; Ferzola, P. H.; Sorbara, J. O. B. and 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. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.019>

Tabatabaei Yazdi, F., Golian, A., Zarghi, H., & Varidi, M. (2017). Effect of wheat-soy diet nutrient density and guanidine acetic acid supplementation on performance and energy metabolism in broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 16(4), 593-600. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1305260>

Tossenberger, J., Rademacher, M., Németh, K., Halas, V., & Lemme, A. J. P. S. (2016). Digestibility and metabolism of dietary guanidino acetic acid fed to broilers. *Poultry Science*, 95(9), 2058-2067. <https://doi.org/10.3382/ps/pew083>

Van Pilsum, J. F.; Stephens, G. C. and Taylor, D. 1972. Distribution of creatine, guanidinoacetate and the enzymes for their biosynthesis in the animal kingdom. Implications for phylogeny. *The Biochemical Journal* 126:325-345. <https://doi.org/10.1042/bj1260325>

Vranes, M., S. Ostojic, A. Tot, S. Papovic, and S. Gadzuric. 2017. “Experimental and Computational Study of Guanidinoacetic Acid Self-aggregation in Aqueous Solution.” *Food Chemistry* 237: 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.088>

Yazdi, F. T.; Golian, A.; Zarghi, H. and Varidi, M. 2017. Effect of wheat-soy diet nutrient density and guanidine acetic acid supplementation on performance and energy metabolism in broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science* 16:593-600. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1305260>

Zarghi, H.; Golian, A. and Yazdi, F. T. 2020. Effect of dietary sulphur amino acid levels and guanidinoacetic acid supplementation on performance, carcass yield and energetic molecular metabolites in broiler chickens fed wheat-soy diets. *Italian Journal of Animal Science* 19:951-959. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1809537>

Wu, G. (2013). Functional amino acids in nutrition and health. *Amino acids*, 45(3), 407-411. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1500-6>

Wyss, M., & Kaddurah-Daouk, R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. *Physiological reviews*. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.1107>

## **CAPÍTULO 2:**

### **EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE LIGNINA PURIFICADA EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A DESAFIO SANITÁRIO**

#### **RESUMO**

O objetivo neste estudo foi o de avaliar os efeitos da suplementação dietética de lignina purificada como alternativa ao antibiótico avilamicina, tradicionalmente utilizado como promotor de crescimento, sobre o desempenho produtivo, o peso relativo dos órgãos, os níveis séricos de malondialdéido, a expressão de mRNA de fator nuclear kappa  $\beta$  (NF-  $\kappa\beta$ ) e as enzimas antioxidantes glutathione peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD1), o peso relativo dos órgãos linfoides e rendimento de carcaça e partes em frangos de corte criados sob desafio sanitário. Um total de 1000 pintos machos (Cobb 500®) foram distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado dentro de cinco tratamentos e de dez repetições. Os tratamentos utilizados foram: T1 - Ração basal + antibiótico avilamicina 10% (controle positivo); T2 - Ração basal sem suplementação de antibiótico ou lignina (controle negativo); T3 - Ração basal + 0,1% de lignina purificada; T4 - Ração basal + 0,2% de lignina purificada; T5 - Ração Basal + 0,5% de lignina purificada. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste Tukey a uma significância de 5%. Não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos em nenhuma das variáveis estudadas. A suplementação de lignina purificada nos níveis de 0,1%, 0,2% e 0,5%, assim como a avilamicina 10%, não melhorou o desempenho nem as respostas antioxidantes em frangos de corte.

Palavras-chave: Avicultura, avilamicina, lignina.

## 1. Introdução

O uso de antibióticos na nutrição avícola como melhorador de desempenho resultou em aumento significativo na taxa de crescimento e na produtividade de frangos de corte na última década (Tajodini et al., 2015). Os melhoradores de desempenho atuam controlando os agentes prejudiciais no processo de digestão e absorção dos nutrientes, impedindo o desenvolvimento de doenças e maximizando o desempenho animal, resultando em melhores índices zootécnicos (Muro et al., 2015).

Embora essa prática é feita para atender à crescente demanda de carne, há preocupações devido ao potencial impacto no desenvolvimento de resistência antimicrobiana, representando um desafio crítico para a saúde humana e animal (Anderson et al., 2003; Saleh et al., 2020).

A lignina é um polímero estrutural presente na parede celular das plantas (Baurhoo et al., 2008), usada como fonte de fibra insolúvel na nutrição das aves (Röhe e Zentek, 2021), classificada como um prebiótico, porque não é digerida e proporciona benefícios ao hospedeiro por meio do metabolismo seletivo, modificando o crescimento ou a atividade de um grupo específico de bactérias no intestino (Gadde et al., 2017; Gibson et al., 2004), possui fragmentos de compostos fenólicos, como o guaiacol e o siringol (Leite et al., 2024), que melhoram a atividade antioxidante do organismo (Ayyachamy et al., 2013).

Este estudo levanta a hipótese de que a suplementação dietética com lignina purificada melhora o desempenho, e os parâmetros fisiológicos de frangos de corte submetidos a desafio sanitário. Portanto, o objetivo neste estudo foi avaliar o efeito da suplementação da lignina purificada como aditivo funcional, comparando ao uso de antibiótico avilamicina, sobre o desempenho, rendimento de carcaça e partes, peso relativo dos órgãos linfoides e gordura abdominal, além dos níveis séricos de malondialdeído (MDA), expressão de mRNA de fator nuclear kappa  $\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ) e enzimas antioxidantes glutathiona peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD1) em frangos de corte submetidos a desafio sanitário.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Questões éticas

Todos os procedimentos experimentais adotados no presente estudo foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética ao uso de Animais de Pesquisa (CEUA), sob o protocolo de número 039/2020, e o experimento foi conduzido de acordo com o protocolo experimental para o uso de aves vivas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

## 2.2 Aves, delineamento experimental, alojamento e dietas

O experimento foi conduzido na cidade de Viçosa, MG, Brasil (20°45'57,19" S, 42°51'35,42" W e 682 m de altitude). Os frangos de corte machos (Cobb 500®) utilizados no experimento foram adquiridos de um incubatório comercial (Rivelli Alimentos SA, Matheus Leme, MG, Brasil). Os pintinhos foram vacinados contra doença de Gumboro e doença de Marek (Sorotipo 3, Vacina Viva contra a Doença de Marek, Merial Inc., Athens, GA).

Foram utilizados 1000 frangos de corte com peso corporal inicial de  $46 \pm 0,2g$ , distribuídos em delineamento inteiramente casualizado composto por cinco tratamentos dietéticos, dez repetições e vinte aves por boxe como unidade experimental. As aves foram alojadas desde o primeiro dia em um galpão de alvenaria contendo 50 boxes (2m<sup>2</sup>), cada um equipado com dois bebedouros tipo nipple e um comedouro tubular de ração. A instalação continha ventiladores, cortinas nas laterais, lâmpadas de aquecimento para fornecer a temperatura ambiente ideal para cada fase experimental.

As aves foram criadas de 1 a 42 dias de idade, considerado como o período experimental. O programa de luz adotado foi de 24 horas de luz (12 natural + 12 artificial) do 1 a 14 dias de idade e, posteriormente, 18 horas de luz até o final do experimento. Durante todo o período experimental a ração farelada e água foram fornecidos à vontade.

O desafio sanitário das aves baseou na ausência de limpeza e desinfecção do galpão experimental após a saída do lote anterior e os boxes foram forrados com 10 cm de cama de maravalha reutilizada sem tratamento prévio. Quanto ao regime alimentar, as rações fareladas foram formuladas a base de milho e farelo de soja, complementadas com aminoácidos industriais para atender as recomendações nutricionais preconizadas por Rostagno et al., (2017) para as fases de 1 a 21 dias e de 22 a 42 dias de idade (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição das rações basais durante o período experimental

Ingredientes	1 - 21 dias	22 - 42 dias
Milho, 7,86%	48,860	58,749
Farelo de soja, 45%	41,798	31,900
Óleo de soja	4,686	5,445
Fosfato bicálcico	1,758	1,325
Calcário	0,866	0,690
Sal comum	0,521	0,481
Inerte	0,500	0,500
DL- metionina	0,331	0,269
L-lisina HCL	0,152	0,199
Premix vitamínico <sup>1</sup>	0,150	0,120
Premix mineral <sup>2</sup>	0,140	0,100
Cloreto de colina	0,100	0,080
L-treonina	0,060	0,053
Anticoccidiano	0,055	0,055
L-valina	0,014	0,025
BHT	0,010	0,010
Valores calculados		
Energia metabolizável, kcal/kg	3025	3200
Proteína bruta (%)	23,20	19,50
Cálcio (%)	0,909	0,705
Fósforo disponível (%)	0,434	0,341
Sódio (%)	0,220	0,203
Glicina + Ser digestível (%)	1,871	1,550
Lisina digestível (%)	1,273	1,077
Met + Cis digestível (%)	0,942	0,797
Valina digestível (%)	0,980	0,829
Treonina digestível (%)	0,840	0,711
Triptofano digestível (%)	0,268	0,217

<sup>1</sup>Premix vitamínico forneceu por kg de produto: vitamina A, 9.638.000 UI; vitamina D3, 2.410.000 UI; vitamina E, 36.100 UI; vitamina B1, 2.600 mg; vitamina B2, 6.450 mg; vitamina B6, 3.610 mg; vitamina B12, 15,9 mg; vitamina K3, 1.936 mg; Ácido Pantotênico, 12,95 g; Ácido Nicotínico, 39,2 g; Ácido Fólico, 903,0 mg; Biotina, 89,8 mg.

<sup>2</sup>Premix mineral forneceu por kg de produto: Mn, 58,36 g; Zn, 54,21 g; Fe, 41,68 g; Cu, 8,31 g; I, 843,00 mg; Se, 250,0 mg.

Os tratamentos experimentais testados foram: T1- Ração basal + antibiótico Avilamicina 10% (controle positivo); T2 - Ração basal sem suplementação de antibiótico ou lignina (controle negativo); T3 - Ração basal + 0,1% de lignina purificada; T4 - Ração basal + 0,2% de lignina purificada; T5 - Ração Basal + 0,5% de lignina purificada.

O melhorador de desempenho utilizado no T1 foi a avilamicina 10% e sua inclusão foi de 150 g/ton de ração (15 ppm). A lignina purificada foi extraída do *Eucalyptus urograndis* utilizado no processamento e produção de celulose e papel. A suplementação da lignina purificada e avilamicina foi feita em substituição da areia, considerado como inerte, nas proporções devidas de cada tratamento estudado.

### 2.3 Desempenho e características da carcaça

Aos 7, 21 e 42 dias de idade todas as aves foram pesadas individualmente, bem como as sobras de ração, para a determinação do desempenho produtivo, sendo calculados o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e a conversão alimentar (CA). As mortalidades foram registradas ao longo do período experimental e as devidas correções dos dados foram realizadas.

Aos 7 e 42 dias de idade foi coletado sangue de uma ave por unidade experimental para determinação dos níveis séricos de malondialdeído (MDA). Aos 7 dias de idade, as mesmas aves utilizadas para coleta de sangue foram sacrificadas para a coleta de fígado e determinação da expressão de mRNA de fator nuclear kappa  $\beta$  (NF-  $\kappa\beta$ ) e enzimas antioxidantes, como glutathiona peroxidase (GPx) e a superóxido dismutase (SOD1). Os órgãos linfoides (baço e bursa de Fabricius) foram removidos e seu peso relativo calculado.

Aos 42 dias de idade, três aves com pesos mais próximos do peso médio de sua respectiva unidade experimental foram selecionadas. No 43º dia, após oito horas de jejum alimentar, os frangos foram sacrificados para a determinação do rendimento de carcaça (RC), peito, coxa com sobrecoxa, bem como o peso relativo dos órgãos linfoides e peso relativo da gordura abdominal. O RC foi calculado em relação ao peso vivo antes do abate (Peso de carcaça x 100/peso vivo) e o rendimento de peito e coxa com sobrecoxa em função do peso da carcaça (peso da parte x 100/peso da carcaça), o peso relativo de bursa de Fabricius, baço, fígado e gordura abdominal foram calculados em relação ao peso corporal das aves antes do abate.

### 2.4 Determinação do nível de transcrição de mRNA

O RNA total das amostras do jejuno foi extraído utilizando o reagente Trizol<sup>®</sup> (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, 279 EUA) de acordo com as instruções do fabricante, na proporção de 1 mL para cada 80 mg de tecido, para mensurar a expressão de mRNA para NF- $\kappa\beta$ , GPx e SOD1. Os conjuntos de primers utilizados estão descritos na tabela 2. A integridade do RNA foi avaliada em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio (10 mg/mL) e visualizado sob luz ultravioleta. Para PCR em tempo real, foi utilizado o corante fluorescente SYBR Green (SYBR<sup>®</sup> GREEN PCR Master Mix, Applied Biosystems, EUA). As condições de amplificação no termociclador foram inicialmente desnaturadas a 95°C por 10 min seguidas de 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos e recozimento a 60°C por um minuto. As curvas de fusão foram realizadas para garantir a especificidade dos produtos de PCR. O gene da  $\beta$ -actina foi

utilizado como controle endógeno. Os dados foram gerados seguindo o método  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (Livak e Schmittgen, 2001).

Tabela 2 - Sequências dos primers para PCR quantitativa de transcrição reversa

Gene	Sequência do primer (5' a 3')
NF-Kb	F: GTGTAGAAGAACGGAGACTG R: GGCACGGTTGTCATAGATGG
GPx	F: GACCAACCCGCAGTACATCA R: GAGGTGCGGGCTTTCCTTA
SOD1	F: AGGGGGTTCATCCACTTCC R: CCCATTTGTGTTGTCTCCAA
$\beta$ -ACTIN	F: ATTGTCCACCGCAAATGCTTC R: AAATAAAGCCATGCCAATCTCGTC

## 2.5 Análises estatística

As análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando o PROC GLM do programa SAS (Sistema de Análise Estatística, versão 9.4). Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) a 5% de significância.

## 3 Resultados

Os efeitos da suplementação da lignina purificada e do antibiótico avilamicina no desempenho produtivo foram avaliados nos intervalos de 1 a 7 dias, de 1 a 21 dias e de 1 a 42 dias de vida. Não foram observados efeitos ( $P > 0,05$ ) dos tratamentos sobre as variáveis de GP, CR e CA ao longo dos 42 dias, assim como para o rendimento de carcaça, peito e coxas com sobrecoxa das aves (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3 - Desempenho produtivo de frangos de corte de 1 a 42 dias

	T1	T2	T3	T4	T5	EPM <sup>2</sup>	P-valor
1 - 7 dias de idade							
GP <sup>1</sup> (kg/ave)	0,143	0,140	0,141	0,140	0,139	0,001	0,853
CR (kg/ave)	0,161	0,155	0,155	0,153	0,156	0,001	0,492
CA	1,13	1,11	1,10	1,09	1,12	0,007	0,510
1 - 21 dias de idade							
GP (kg/ave)	1,018	1,006	1,018	1,019	1,027	0,005	0,805
CR (kg/ave)	1,345	1,342	1,326	1,325	1,357	0,006	0,464
CA	1,32	1,33	1,30	1,30	1,32	0,007	0,526
1 - 42 dias de idade							
GP (kg/ave)	3,495	3,450	3,488	3,446	3,495	0,012	0,550
CR (kg/ave)	5,294	5,274	5,185	5,121	5,299	0,025	0,092
CA	1,51	1,53	1,49	1,49	1,52	0,008	0,407

<sup>1</sup>GP: ganho de peso; CR: consumo de ração; CA: conversão alimentar.

<sup>2</sup>Erro padrão da média.

Tabela 4 - Rendimento de carcaça (% do peso vivo) e peito e coxas + sobrecoxa (% da carcaça) de frangos de corte aos 42 dias de idade

	T1	T2	T3	T4	T5	EPM <sup>1</sup>	P-valor
Carcaça (%)	81,56	80,99	81,33	81,41	80,96	0,17	0,758
Peito (%)	39,57	38,89	38,75	38,46	38,54	0,21	0,481
Coxa+Sobrecoxa (%)	26,05	26,66	26,61	26,55	26,65	0,13	0,545

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

O nível sérico de MDA nos frangos de corte aos 7 e 42 dias de idade também não foi influenciado pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ; tabela 5).

Tabela 5 - Níveis séricos de malondialdeído (nmol/ml) de frangos de corte aos 7 e 42 dias de idade.

Idade/dia	T1	T2	T3	T4	T5	EPM <sup>1</sup>	P-valor
7	3,18	2,72	3,09	2,88	2,79	0,07	0,185
42	2,58	3,37	3,00	2,99	2,96	0,12	0,374

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

A suplementação de lignina e antibiótico avilamicina também não influenciou ( $P > 0,05$ ) os pesos relativos da bursa de Fabricius, baço, fígado e gordura abdominal das aves (Tabela 6).

Tabela 6 - Pesos relativos de bursa de Fabricius, baço, fígado e gordura abdominal de frangos de corte aos 7 e 42 dias de idade.

	T1	T2	T3	T4	T5	EPM <sup>1</sup>	P-valor
7 dias de idade							
Baço (%)	0,083	0,108	0,087	0,095	0,086	0,003	0,283
Bursa (%)	0,200	0,185	0,177	0,165	0,202	0,005	0,193
42 dias de idade							
Baço (%)	0,081	0,091	0,081	0,090	0,088	0,001	0,116
Bursa (%)	0,159	0,150	0,172	0,177	0,166	0,003	0,203
Fígado (%)	1,686	1,730	1,664	1,651	1,665	0,017	0,614
Gordura abdominal (%)	0,981	0,931	0,947	0,995	0,917	0,028	0,897

<sup>1</sup>Erro padrão da média.

A expressão de mRNA de NF-  $\kappa$ B, GPx e SOD1 no fígado não foi influenciada pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ; Figuras 1, 2 e 3).

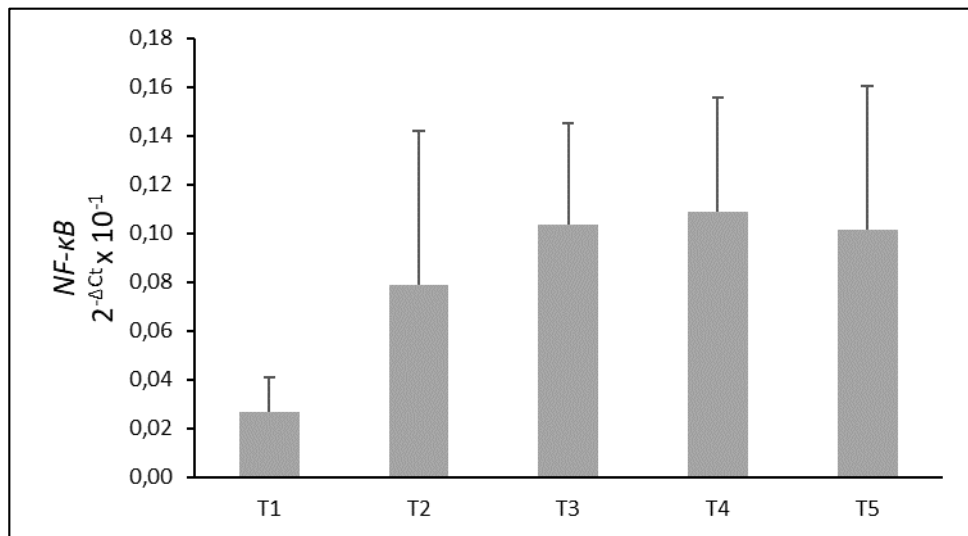


Figura 1- Expressão de mRNA para fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) no fígado de frangos de corte aos 7 dias de idade.  $P = 0,739$

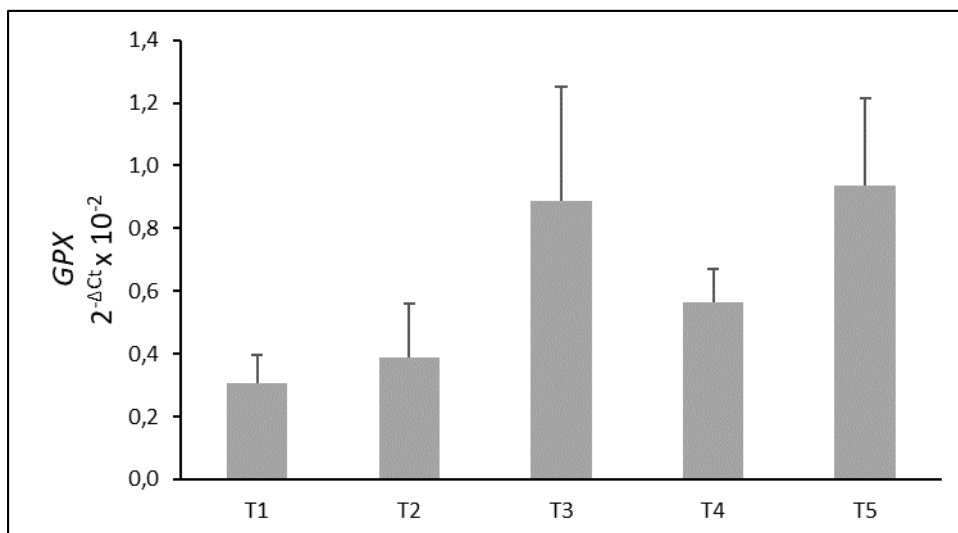


Figura 2 - Expressão de mRNA para glutiona peroxidase (GPx) no fígado de frangos de corte aos 7 dias de idade. P =0,203

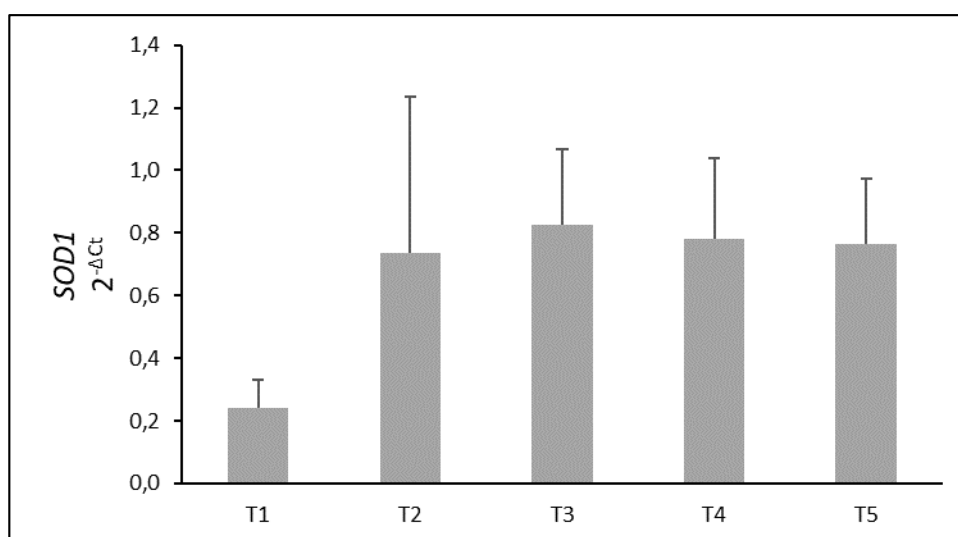


Figura 3 - Expressão de mRNA para superóxido dismutase (SOD1) no fígado de frangos de corte aos 7 dias de idade. P =0,612

#### 4 Discussão

Na avicultura, os frangos de corte frequentemente enfrentam condições adversas e estressantes durante o crescimento, principalmente quando são criados em altas densidades (Kridtayopas et al., 2019). Além disso, a cama utilizada no ambiente de criação dessas aves representa um potencial reservatório e veículo de transmissão de patógenos (Schrader et al., 2004). Inicialmente, esperava-se que a cama reutilizada não tratada usada no presente experimento, atuasse como desafio sanitário. No entanto, isso não foi confirmado, pois o grupo T2 (ração basal sem suplementação de antibiótico ou lignina) apresentou resultados similares para todas as variáveis em comparação ao tratamento T1 controle positivo. Esse efeito pode ser

atribuído à administração de antibióticos nas dietas das aves do lote anterior. Resultando em controle da concentração de bactérias, e reduzindo a condição de desafio sanitário do lote. Além disso, as aves do presente estudo podem ter alcançado respostas produtivas máximas sem a necessidade dos aditivos estudados. Segundo Reis e Vieites (2019), o uso de aditivos equilibradores da microbiota intestinal nas rações para aves tem gerado resultados divergentes, devido ao baixo desafio das instalações experimentais, em comparações com os galpões comerciais de criação. O ambiente experimental geralmente apresenta maior vazio sanitário e higiene, o que resulta em uma menor carga microbiana. Além disso, o perfil e composição de cada produto comercial utilizado, sua dosagem e a via de administração podem também interferir nas respostas. No estudo de Saleh et al. (2020), o uso do antibiótico avilamicina em dieta dos frangos de corte, resultou em aumento significativo no GP, rendimento de peito, e uma diminuição (%) de gordura abdominal no final dos 22 dias, em comparação com o grupo controle; no entanto, a CA não foi afetada. Resultados semelhantes foram observados por Wellenreiter et al. (2000), onde o grupo de frangos aos 45 dias de idade que recebeu avilamicina apresentou maior GP, rendimento de carcaça e peito, sem influência na CA. Porém, no presente estudo, a suplementação de avilamicina não demonstrou influência em nenhuma das variáveis estudadas.

Nos últimos anos, pesquisadores têm se concentrado em investigar os efeitos da suplementação da lignina na nutrição de frangos de corte (Röhe e Zentek, 2021). A lignina purificada utilizada neste estudo, atuaria como um prebiótico no trato digestório, não é fermentada por microrganismos e possui um componente estrutural não viscoso, alcançando o intestino posterior (Knudsen, 2001; Sozcu, 2019; Röhe et al., 2020). Isso poderia promover o crescimento de bactérias benéficas e melhorar as estruturas morfológicas intestinais, potencialmente auxiliando no controle de patógenos intestinais (Baurhoo et al., 2008; Kheravii et al., 2017; Sozcu, 2019), representando uma alternativa ao uso dos antibióticos (Sanchez-Torres et al., 2022; Leite et al., 2024). De acordo com Choi et al. (2023), a suplementação de compostos bioativos como os prebióticos na nutrição de frangos de corte, melhora a qualidade da carne, capacidade antioxidante e composição corporal. Contudo, nas condições e parâmetros avaliados no nosso estudo, não foi observado esse benefício no desempenho dos frangos, no RC e no peso relativo das partes.

Os dados encontrados na literatura sobre o impacto da lignina no desempenho de produção e suas possíveis aplicações como melhorador de desempenho não são consistentes. Bogusławska-Tryk et al. (2015), investigando os efeitos de níveis de lignocelulose (0,25%, 0,5% e 1,0%) em comparação com um grupo controle em frangos de corte até 42 dias de vida,

não observaram efeito significativo no GP, CA e o valor do índice de eficiência energética, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo. Outros estudos utilizando níveis semelhantes de lignina do nosso também não demonstraram efeitos significativos (Kheravii et al., 2017; Zeitz et al., 2019; Röhe et al., 2020; Nunes et al., 2022). Enquanto nos estudos de Makivic et al. (2019) e Radulovic et al. (2020) o nível de 0,6% de lignina demonstrou melhorar o desempenho dos frangos de corte aos 42 dias. Para Sozcu (2019) e Leite et al. (2024) o nível de 1,0% de lignina teve o mesmo efeito positivo sobre o desempenho.

De acordo com Zeitz et al. (2019), a lignina atuaria como estimuladora para maior atividade dos órgãos, resultando em um aumento no peso, como a moela e proventrículo, e no comprimento intestinal. Devido às suas propriedades de insolubilidade, a digesta permanece mais tempo retido, permitindo assim uma taxa de passagem que promove maior contato da dieta com as enzimas (Radulovic et al., 2020), ocorrendo uma melhoria na digestão e absorção de nutrientes, e a melhora da digestibilidade, o que poderia levar a um melhor desempenho (Leite et al., 2024), porém não foi observado efeito no desempenho das aves neste estudo.

No estudo de Kheravii et al. (2017), o peso e pH da moela não foi alterado pela suplementação de lignina na dieta, e no estudo de Nunes et al. (2022), o peso relativo do intestino não foi influenciado pela suplementação da lignina na dieta.

De acordo com Choi et al. (2023), os compostos fenólicos podem atuar como uma estratégia nutricional eficaz para melhorar a qualidade e o rendimento de carne, devido seu poder antioxidante, pois melhora a utilização dos nutrientes e reduz a peroxidação lipídica. Quanto ao RC e partes (peito e coxa e sobrecoxa) e o peso relativo da gordura abdominal do presente estudo, também não foram observados efeitos dos tratamentos. No estudo de Leite et al. (2024), aos 42 dias de vida, o grupo que recebeu antibiótico bacitracina de zinco teve melhor rendimento de carcaça comparado ao grupo controle e ao grupo com 1% de lignina, mas a porcentagem de gordura abdominal entre todos os tratamentos foram iguais.

Os órgãos Bursa de Fabricius e baço são os principais órgãos linfóides das espécies aviárias que desempenham um papel crucial no desenvolvimento e manutenção da imunidade, sendo responsáveis pela produção de macrófagos, células B, precursoras de IgA e células T (Islam et al., 2023). O estado imunológico tem papel primordial na manutenção da homeostasia e no combate a desafio contra agentes patogênicos (Cardoso e Tessari, 2015). No presente estudo não houve diferença significativa entre os tratamentos para peso relativo de bursa de Fabricius, baço e fígado, os valores estão dentro do padrão, garantindo mesmo estado fisiológico de saúde dos frangos alimentados com antibiótico ou lignina purificada em diferentes concentrações. O mesmo achado foi citado no trabalho de Nunes et al. (2022). De

acordo com Yokhana et al. (2016), o peso dos órgãos como o fígado pode ser aumentado pela adição de fibra insolúvel e maior CR, e isso pode contribuir para melhor utilização dos alimentos, conseqüentemente melhorando o desempenho, porém, isso não foi observado em nosso estudo.

A lignina purificada utilizada no presente estudo foi extraída da madeira de *Eucalyptus urograndis*, este produto é rico em compostos fenólicos como o guaiacol e o siringol (Leite et al., 2024), considerados polifenóis naturais capazes de atuarem na redução de variedade de radicais livres (Anouar et al., 2009), quando em concentrações ideais (não citotóxico) (Ayyachamy et al., 2013), e também considerados como substâncias fungitóxicas, antibacterianas e antiviróticas (Shahidi e Ambigaipalan, 2015).

Os frangos de corte estão sujeitos ao estresse oxidativo devido à sua alta taxa metabólica decorrente ao crescimento rápido. A produção de espécies reativas de oxigênio desempenham um papel crucial na sinalização celular, mas quando em excesso, em relação aos mecanismos de defesa antioxidante endógenos, resulta no desenvolvimento de um estado de estresse oxidativo (Lauridsen, 2019). A proteína NF- $\kappa$ B é considerada parte de um sistema de resposta de emergência, eficaz contra infecção e estresse (Pal et al., 2014), responsável pelo controle de ativação de genes relacionados a resposta imune, regula a transcrição de uma série de genes diferentes, incluindo a produção de peptídeos antimicrobianos, citocinas pró-inflamatórias e proteínas de fase aguda, ajudando a combater patógenos (bactérias, vírus, parasitas). Pode ser ativada também em respostas a estressores ambientais, como espécie reativas a oxigênio, desempenhando um papel de proteção das células associados ao crescimento, proteção e reparo celular (Surai et al., 2021). Entretanto, em nosso estudo não foi observada alteração na expressão de mRNA para NF- $\kappa$ B em função dos tratamentos.

O MDA é um produto secundário da oxidação, e é usado para quantificar o estado oxidativo. Quando um organismo está sob estresse oxidativo, os altos níveis de radicais livres circulantes danificam as membranas celulares e as lipoproteínas e subsequentemente leva a formação de MDA (Desbruslais e Wealleans, 2022). No presente estudo, tanto no dia 7 quanto no 42, os níveis de MDA não foram alterados de acordo com os tratamentos. Esse achado corrobora com o estudo de Nunes et al. (2022), que também não observou efeito da suplementação de lignina purificada sobre os níveis de MDA aos 42 dias em frangos de corte submetidos a estresse por calor cíclico.

A GPx e a SOD1 são as duas principais enzimas antioxidantes em aves, e funcionam através da degradação e remoção de radicais livres, convertendo espécies reativas de oxigênio em peróxido de hidrogênio e depois em água durante o processo de atuação enzimático

(Desbruslais e Wealleans, 2022). No presente estudo foram avaliadas a expressão mRNA de GPx e SOD1 no fígado. No entanto, também não foi observado efeito dos tratamentos, ou seja, todos grupos de aves apresentaram estado fisiológico oxidativo similar. Esses resultados de expressão gênica corroboram com os observados por Nunes et al. (2022), que ao avaliar a suplementação de lignina purificada em 0,5%, 1,0% e 1,5% dos 22 a 42 dias de idade não observaram diferença significativa para GPx e SOD1.

Embora estudos anteriores tenham sugerido potenciais benefícios da lignina em outras condições, os resultados deste estudo indicam a necessidade de investigações adicionais para compreender melhor o seu papel na nutrição e saúde das aves, especialmente em contextos de desafios sanitários.

## 5 Conclusão

A suplementação de lignina purificada nos níveis de 0,1%, 0,2% e 0,5%, assim como a adição de avilamicina 10%, não melhorou o desempenho nem as respostas antioxidantes em frangos de corte.

## 6 Referências

- Anderson, A. D., Nelson, J. M., Rossiter, S., & Angulo, F. J. (2003). Public health consequences of use of antimicrobial agents in food animals in the United States. *Microbial Drug Resistance*, 9(4), 373-379. <https://doi.org/10.1089/107662903322762815>
- Anouar, E., Calliste, C. A., Kosinova, P., Di Meo, F., Duroux, J. L., Champavier, Y., ... & Trouillas, P. (2009). Free radical scavenging properties of guaiacol oligomers: A combined experimental and quantum study of the guaiacyl-moiety role. *The Journal of Physical Chemistry A*, 113(50), 13881-13891. <https://doi.org/10.1021/jp906285b>
- Ayyachamy, M., Cliffe, F. E., Coyne, J. M., Collier, J., & Tuohy, M. G. (2013). Lignin: untapped biopolymers in biomass conversion technologies. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 3, 255-269. <https://doi.org/10.1007/s13399-013-0084-4>
- Baurhoo, B., Ruiz-Feria, C. A., & Zhao, X. (2008). Purified lignin: Nutritional and health impacts on farm animals—A review. *Animal Feed Science and Technology*, 144(3-4), 175-184. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.10.016>

Bogusławska-Tryk, M., Szymeczko, R., Piotrowska, A., Burlikowska, K., & Śliżewska, K. (2015). Ileal and cecal microbial population and short-chain fatty acid profile in broiler chickens fed diets supplemented with lignocellulose. *Pakistan Veterinary Journal*, 35(2):212-216. ISSN: 0253-8318 (PRINT), 2074-7764

Cardoso, A. L. S. P., & Tessari, E. N. C. (2015). Interação entre imunidade e nutrição das aves: revisão de literatura. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, 24(0). ISSN:1679-7353

Choi, J., Kong, B., Bowker, B. C., Zhuang, H., & Kim, W. K. (2023). Nutritional Strategies to Improve Meat Quality and Composition in the Challenging Conditions of Broiler Production: A Review. *Animals*, 13(8), 1386. <https://doi.org/10.3390/ani13081386>

Desbruslais, A., & Wealleans, A. L. (2022). Oxidation in Poultry Feed: Impact on the Bird and the Efficacy of Dietary Antioxidant Mitigation Strategies. *Poultry*, 1(4), 246-277. <https://doi.org/10.3390/poultry1040022>

Gadde, U., Kim, W. H., Oh, S. T., & Lillehoj, H. S. (2017). Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal health research reviews*, 18(1), 26-45. <https://doi.org/10.1017/S1466252316000207>

Gibson, G. R., Probert, H. M., Van Loo, J., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition research reviews*, 17(2), 259-275. <https://doi.org/10.1079/NRR200479>

Islam, R., Sultana, N., Haque, Z., & Rafiqul Islam, M. (2023). Effect of dietary dexamethasone on the morphologic and morphometric adaptations in the lymphoid organs and mortality rate in broilers. *Veterinary Medicine and Science*. <https://doi.org/10.1002/vms3.1139>

Kheravii, S. K., Swick, R. A., Choct, M., & Wu, S. B. (2017). Coarse particle inclusion and lignocellulose-rich fiber addition in feed benefit performance and health of broiler chickens. *Poultry Science*, 96(9), 3272-3281. <https://doi.org/10.3382/ps/pex123>

Knudsen, K. B. (2001). The nutritional significance of “dietary fibre” analysis. *Animal feed science and technology*, 90(1-2), 3-20. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00193-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00193-6)

Kridtayopas, C., Rakangtong, C., Bunchasak, C., & Loongyai, W. (2019). Effect of prebiotic and synbiotic supplementation in diet on growth performance, small intestinal morphology, stress, and bacterial population under high stocking density condition of broiler chickens. *Poultry science*, 98(10), 4595-4605. <https://doi.org/10.3382/ps/pez152>

Lauridsen, C. (2019). From oxidative stress to inflammation: Redox balance and immune system. *Poultry science*, 98(10), 4240-4246. <https://doi.org/10.3382/ps/pey407>

Leite, B. G. S, Granghelli, C. A., de Arruda Roque, F., Carvalho, R. S. B., Lopes, M. H. S., Pelissari, P. H., ... & Araújo, L. F. (2024). Evaluation of dietary lignin on broiler performance, nutrient digestibility, cholesterol and triglycerides concentrations, gut morphometry and lipid oxidation. *Poultry Science*, 103518. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103518>

Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  Method. *Methods* 25(4):402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

Makivić, L., Glišić, M., Bošković, M., Đorđević, J., Marković, R., Baltić, M. Ž., & Šefer, D. (2019). Performances, heal and cecal microbial populations and histological characteristics in broilers fed diets supplemented with lignocellulose. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(1), 83-91. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.20356>

Muro, E. M., Pelícia, V. C., Vercese, F., de Souza, I. M. G. P., Pimenta, G. E. M., Oliveira, R. S. D. S. G., & Sartori, J. R. (2015). Aditivos fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico na dieta de frangos desafiados com coccidiose. *Agrarian*, 8(29), 304-311.

Nunes, R. A., Albino, L. F. T., Campos, P. H. R. F., Salgado, H. R., Borges, S. O., Ferreira, R. D. S., ... & Calderano, A. A. (2022). Purified lignin supplementation on the performance and antioxidant status of broilers subjected to cyclic heat stress. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 51, e20210154. <https://doi.org/10.37496/rbz5120210154>

Pal, S., Bhattacharjee, A., Ali, A., Mandal, N. C., Mandal, S. C., & Pal, M. (2014). Chronic inflammation and cancer: potential chemoprevention through nuclear factor kappa B and p53 mutual antagonism. *Journal of inflammation*, 11, 1-28. <https://doi.org/10.1186/1476-9255-11-23>

Radulovic, S., Sefer, D., Jovanovic, D., Peric, D., Boskovic, S., Markovic, R., ... & Grdovic, S. (2020). Effects of purified lignocellulose on health and production results of broilers. *Agriculture and Food*, 8(1). ISSN: 1314-8591 <https://veterinar.vet.bg.ac.rs/handle/123456789/2621>

Reis, T. L., & Vieites, F. M. (2019). Antibiótico, prebiótico, probiótico e simbiótico em rações de frangos de corte e galinhas poedeiras. *Ciência Animal*, 29(3), 133-147.

Röhe, I., & Zentek, J. (2021). Lignocellulose as an insoluble fiber source in poultry nutrition: a review. *Journal of animal science and biotechnology*, 12(1), 82. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00594-y> .

Röhe, I., Metzger, F., Vahjen, W., Brockmann, G. A., & Zentek, J. (2020). Effect of feeding different levels of lignocellulose on performance, nutrient digestibility, excreta dry matter, and intestinal microbiota in slow growing broilers. *Poultry science*, 99(10), 5018-5026. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.053>

Saleh, A. A., Amber, K., & Mohammed, A. A. (2020). Dietary supplementation with avilamycin and *Lactobacillus acidophilus* effects growth performance and the expression of growth-related genes in broilers. *Animal Production Science*, 60(14), 1704-1710. <https://doi.org/10.1071/AN19030>

Sánchez-Torres, L., Macias-Flores, M., Gutiérrez-Arenas, D., Arredondo-Castro, M., Valencia-Posadas, M., & Avila-Ramos, F. (2022). Fibra como prebiótico para aves de producción: una revisión. *Abanico veterinario*, 12. <https://doi.org/10.21929/abavet2022.24>

Schrader, J. S., Singer, R. S., & Atwill, E. R. (2004). A prospective study of management and litter variables associated with cellulitis in California broiler flocks. *Avian diseases*, 48(3), 522-530. <https://doi.org/10.1637/7125>

Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, *18*, 820-897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>

Sozcu, A. (2019). Growth performance, pH value of gizzard, hepatic enzyme activity, immunologic indicators, intestinal histomorphology, and cecal microflora of broilers fed diets supplemented with processed lignocellulose. *Poultry science*, *98*(12), 6880-6887. <https://doi.org/10.3382/ps/pez449>

Tajodini, M.; Saeedi, H. R.; Moghbeli, P. Use of black pepper, cinnamon and turmeric as feed additives in the poultry industry. *World's Poultry Science Journal*, v. 71, 2015. <https://doi.org/10.1017/S0043933915000148>

Wellenreiter, R. H., Mowrey, D. H., Stobbs, L. A., & d'Assonville, J. A. (2000). Effects of avilamycin on performance of broiler chickens. *Veterinary Therapeutics*. Vol. 1, No. 2, Spring 118-124.

Yokhana, J. S., Parkinson, G., & Frankel, T. L. (2016). Effect of insoluble fiber supplementation applied at different ages on digestive organ weight and digestive enzymes of layer-strain poultry. *Poultry science*, *95*(3), 550-559. <https://doi.org/10.3382/ps/pev336>

Zeitz, J. O., Neufeld, K., Potthast, C., Kroismayr, A., Most, E., & Eder, K. (2019). Effects of dietary supplementation of the lignocelluloses FibreCell and OptiCell on performance, expression of inflammation-related genes and the gut microbiome of broilers. *Poultry science*, *98*(1), 287-297. <https://doi.org/10.3382/ps/pey345>

**Conclusão geral**

A suplementação de ácido guanidinoacético melhora a eficiência do uso de energia em frangos de corte, e a equivalência média da energia metabolizável de 600 mg/kg de ácido guanidinoacético é de 88,5 kcal/kg. A suplementação de lignina purificada nos níveis de 0,1%, 0,2% e 0,5%, assim como a adição de avilamicina 10%, não melhorou o desempenho nem respostas antioxidantes em frangos de corte.

## ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO  
 CEUAP/UFV

*Campus Universitário – Viçosa, MG – 36570-900 – Telefone: (31) 3899.3275 – e-mail: ceuap@ufv.br – site: www.ceuap.ufv.br*

Viçosa, 20 de Agosto de 2020

## CERTIFICADO

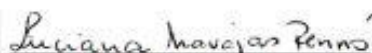
Certificamos que o projeto intitulado "**Matriz energética do ácido guanidinoacético para frangos de corte**", protocolo n° **034/2020**, sob a responsabilidade de **Arele Arlindo Calderano** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi apreciado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) em reunião de **18 de ago. de 2020**.

Finalidade:  **Pesquisa**       **Ensino** Vigência do Projeto: de **01 de Setembro de 2020 a 30 de dezembro de 2021** Espécie/linhagem: **Frango de corte (*Gallus gallus domesticus*)**      N° de animais: **1280**  
 Peso: **40 gr**    Idade: **01 dia**    Sexo: **Macho**    Origem: **Incubatorio Rivelli Cnpj/CPF: 478.715.616-49**  
 Endereço: **Rua Leão José, 257 Mateus Leme, MG Responsável : Maria Cecília CRMV: 10595ula Adriane Perez Ribeiro**

## CERTIFICATE

We certify that the project entitled "**Energy matrix of guanidinoacetic acid for broilers**", protocol n° **034/2020**, under the responsibility of **Arele Arlindo Calderano** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum chordata, subphylum vertebrata (except man), for scientific research purposes (or education) - is in accordance with the law n°. 11.794, of October 8, 2008, Decree n°. 6899 of July 15, 2009, and the rules issued by the Brazilian National Council for Animal Experimentation Control (CONCEA), and was approved by the Ethics Commission on the use of farm animals of Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) in its meeting on **Aug. 18th, of 2020**.

Finality:  **Research**       **Education**  
 Duration of the Project: from **Sep. 01<sup>st</sup> of 2020** to **Dec. 30th, of 2021**.  
 Species / strain: **Broiler (*Gallus gallus domesticus*)**      N° of animals: **1280**  
 Weight: **40 gr**    Age: **01 day**    Sex: **Male**    Source: **Incubatorio Rivelli Cnpj/CPF: 478.715.616-49** Endereço: **Rua Leão José, 257 Mateus Leme, MG Responsável : Maria Cecilia CRMV: 10595ula Adriane Perez Ribeiro**

  
 Luciana Navajas Rennó  
 Coordenadora da CEUAP/UFV



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO  
 CEUAP/UFV

*Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-900 - Telefone: (31) 3899.3275 - e-mail: ceuap@ufv.br - site: www.ceuap.ufv.br*

Viçosa, 26 de Agosto de 2020

## CERTIFICADO

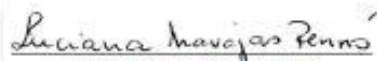
Certificamos que o projeto intitulado "**Suplementação de compostos fenólicos para frangos de corte submetidos a desafio sanitário**", protocolo n° 039/2020, sob a responsabilidade de **Arele Arlindo Calderano** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi apreciado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) em reunião de **18 de ago. de 2020**.

Finalidade:  **Pesquisa**      ( ) **Ensino** Vigência do Projeto: de **01 de março de 2021 a 30 de fevereiro de 2023** Espécie/linhagem: **Frango de corte (*Gallus galus domesticus*)**      Nº de animais: **1000**  
 Peso: **40 g**      Idade: **01 dia**      Sexo: **Macho**      Origem: **Incubatorio Rivelli Cnpj/CPF: 478.715.616-49**  
 Endereço: **Rua Leão José, 257 Mateus Leme, MG Responsável : Maria Cecília CRMV: 10595**

## CERTIFICATE

We certify that the project entitled "**Supplementation of phenolic compounds for broilers subjected to health challenge**", protocol n° 039/2020, under the responsibility of **Arele Arlindo Calderano** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum chordata, subphylum vertebrata (except man), for scientific research purposes (or education) - is in accordance with the law n°. 11.794, of October 8, 2008, Decree n°. 6899 of July 15, 2009, and the rules issued by the Brazilian National Council for Animal Experimentation Control (CONCEA), and was approved by the Ethics Commission on the use of farm animals of Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) in its meeting on **Aug. 18th, of 2020**.

Finality:  **Research**      ( ) **Education**  
 Duration of the Project: from **Mar. 01<sup>st</sup>, of 2021 to Feb. 30th, of 2023**.  
 Species / strain: **Broiler (*Gallus galus domesticus*)**      Nº of animals: **1000**  
 Weight: **40 g**      Age: **01 day**      Sex: **Male**      Source: **Incubatorio Rivelli Cnpj/CPF: 478.715.616-49** Endereço:  
**Rua Leão José, 257 Mateus Leme, MG Responsável : Maria Cecília CRMV: 10595**

  
 Luciana Navajas Rennó  
 Coordenadora da CEUAP/UFV