

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA– PPGZOO

ANA IRIS SILVA DOS SANTOS

**TRIBUTIRINA NA DIETA DE CORDEIROS: IMPACTOS SOBRE O DESEMPENHO
ZOOTECNICO, SAÚDE, ACABAMENTO DE CARÇAÇA E QUALIDADE DE CARNE**

CHAPECÓ

2023

ANA IRIS SILVA DOS SANTOS

TRIBUTIRINA NA DIETA DE CORDEIROS: IMPACTOS SOBRE O DESEMPENHO ZOOTECNICO, SAÚDE, ACABAMENTO DE CARÇA E QUALIDADE DE CARNE

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.
Orientador: Prof. Dr. Julcemar Dias Kessler

CHAPECÓ

2023

Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Universitária Udesc,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Santos, Ana Iris Silva dos
Tribuirina na dieta de cordeiros : Impactos sobre o desempenho zootécnico, saúde, acabamento de carcaça e qualidade da carne / Ana Iris Silva dos Santos. – 2023.
73 p.

Orientador: Julcemar Dias Kessler
Coorientador: Aleksandro Shafer da da Silva
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2023.

1. Aditivo. 2. Produção animal. 3. Tributirina. 4. Ácidos graxos. 5. Cordeiros. I. Kessler, Julcemar Dias. II. da Silva, Aleksandro Shafer da. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

ANA IRIS SILVA DOS SANTOS

TRIBUTIRINA NA DIETA DE CORDEIROS: IMPACTOS SOBRE O DESEMPENHO ZOOTECNICO, SAÚDE, ACABAMENTO DE CARÇAÇA E QUALIDADE DE CARNE

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC. Orientador: Prof. Dr. Julcemar Dias Kessler

BANCA EXAMINADORA

Membros:

Julcemar Dias Kessler, Dr.

Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Paula Montagner, Dr^a

Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Letieri Griebler, Dr^a

Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC)

Chapecó, 15 de dezembro de 2023.

AGRADECIMENTOS

Agradeço todos os dias a mim mesma por ter me permitido uma experiência dessa grandeza tão longe de casa. Foi necessário muita coragem e empenho para enfrentar a saudade somada ao esforço necessário nas atividades de campo, laboratório e tempo de escrita.

Agradeço a meu inseparável esposo Geovanne Ursulino que foi íntimo ao me apoiar nessa empreitada sem duvidar um momento do meu potencial e sonhos. Dedico este trabalho a meus pais Marinalva Maria e José Geraldo pelo apoio infinito e encorajamento constante. Quero um dia poder retribuir toda batalha que enfrentaram em suas vidas por minha causa.

Agradeço a todos os amigos que enviaram mensagens de apoio do começo ao fim, Alberto e Patrícia, verdadeiras inspirações da nossa vida e segundos pais.

Agradeço aos meus orientadores por aceitar conduzir o meu trabalho de pesquisa, eles foram fundamentais para eu acreditar que todo momento ruim havia passado. E foi o que aconteceu, os professores Julcemar Kessler e Aleksandro Schafer abraçaram minha causa e com bom humor e leveza me conduziram de forma que eu me tornasse mais independente no processo.

Uma grande salva de agradecimento vai para a equipe de trabalho de campo composta por pessoas que me auxiliaram de forma prestativa e que com certeza levaram aprendizado profissional com a realização desta pesquisa. Sem os integrantes dos grupos GEPOV (grupo de estudos e pesquisa em ovinos) e GANA (grupo de estudos em aditivos na nutrição animal) não haveria execução do trabalho, não haveria pesquisa.

Sou grata a todos os meus professores do curso de Pós-graduação das disciplinas pelas quais passei em especial as professoras Aline Zampar e Maria Luiza que foram maravilhosas anfitriãs tanto no espaço da universidade quanto da cidade de Chapecó. Inclusive, agradeço ao programa de Pós-graduação em Zootecnia da UDESC pelo completo apoio financeiro para permanência na cidade através das Bolsas PROMOP e CAPES. Sou grata pela existência da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC pela excelência na qualidade de ensino de forma gratuita.

Sou agradecida por ter vivido tudo, cada dia de aula, cada dia de laboratório, cada dia na fazenda experimental FECEO, cada tropeço e aprendizado. Tudo que faço é com muita dedicação e respeito ao compromisso que tenho com minha história

de mulher filha de mãe preta e pai caboclo, de mulher negra que graças a educação caminha em ascensão. A educação me faz ser plena da existência de alguém como eu que decide estar onde ela quer estar. Sou grata pela confiança depositada em mim.

“É desse dia que fujo e corro atrás
que perco tempo
e ao mesmo tempo engulo
o tempo não foge
a vida, sim”

(Ana Iris, **Cavia Porcellus**, 2018)

RESUMO

O ácido butírico é retratado na literatura como aditivo principalmente na forma de butirato de sódio e outros sais com diversos efeitos em animais ruminantes jovens, porém já estabelecido em animais monogástricos. A Tributirina aparece como três moléculas de ácido butírico esterilizado em uma molécula de glicerol. Este triglicerídeo tem sido associado a melhoras no desempenho de animais ruminantes jovens e na função imunomoduladora entre o pós-natal e pós-desmame, contudo, ainda é necessário compreender este aditivo na fase de engorda e seus efeitos sobre a qualidade da carne. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar se o triglicerídeo Tributirina impacta no desempenho zootécnico, saúde, ambiente ruminal e qualidade de carne de cordeiros. Utilizou-se 12 cordeiros, no qual o grupo controle recebeu uma dieta basal e o grupo tratamento recebeu dieta basal mais 0,02 kg de Tributirina misturado ao concentrado. O fornecimento de Tributirina não influenciou no desempenho animal. Em nosso estudo a adição de Tributirina na dieta dos cordeiros obteve efeitos mais evidentes sobre a função imunológica, status oxidativo e perfil de ácidos graxos na carne. A contagem de leucócitos e linfócitos foi maior em animais tratados com Tributirina comparado aos animais do grupo controle, pois o butirato atua como elo entre a microbiota e o sistema imunológico com papel ativo nas reações imunes. Animais do tratamento com Tributirina tiveram maiores concentrações de adenilato quinase e piruvato quinase nos tecidos fígado e intestino, enquanto o glutatona s-transferase do fígado foi aumentado também sob efeito da Tributirina havendo possível desequilíbrio na compensação energética. A atividade bacteriana no fluido ruminal foi maior com aumento do quantitativo de protozoários em animais tratados com Tributirina comparados aos animais do grupo controle. Não foram observadas diferenças para as características de rendimento de carne, características físicas e químicas, exceto pela capacidade de retenção de água (CRA). Houve uma redução dos ácidos graxos saturados e aumento dos monoinsaturados no grupo Tratamento. Concluímos que neste trabalho, a Tributirina contribuiu para um cenário pró-inflamatório em conjunto com alta demanda energética para gasto no metabolismo antioxidante.

Palavras-chave: Cordeiros; Nutrição de ovinos; Aditivos; Tributirina; Lacaune.

ABSTRACT

Butyric acid is portrayed in the literature as an additive mainly in the form of sodium butyrate and other salts with adverse effects on young ruminant animals, but already established in monogastric animals. Tributyrin appears as a prodrug of butyric acid sterilized in a glycerol molecule. This triglyceride has been associated with improvements in the performance of young ruminant animals and immunomodulatory function between postnatal and post-weaning, however, it is still necessary to understand this additive in the fattening phase and meat quality. Thus, the objective of this study was to evaluate whether the triglyceride Tributyrin impacts the zootechnical performance, health, rumen environment and meat quality of lambs. 12 lambs were used where the control group received a basal diet and the treatment group received a basal diet plus 0.02 kg of Tributyrin mixed with the concentrate. No direct contributions of the additive negatively or positively to performance were observed. In our study, the addition of Tributyrin to the lambs' diet had more evident effects on immune function, oxidative status and fatty acid profile in the meat. The leukocyte and lymphocyte count was higher in animals treated with Tributyrin compared to animals in the control group, as butyrate acts as a link between the microbiota and the immune system with an active role in innate reactions. Animals treated with Tributyrin had concentrations of AK and PK in liver and intestine tissues, while liver GGT was also increased under the effect of Tributyrin, resulting in a possible imbalance in energy compensation. Bacterial activity in ruminal fluid was higher with an increase in the number of protozoa in animals treated with Tributyrin compared to animals in the control group. No differences were observed for meat yield characteristics, physical and chemical characteristics, except for water retention capacity (WHC). There was a reduction in saturated fatty acids (SFA) and an increase in monounsaturated fatty acids (MFAI). We conclude that in this work, Tributyrin contributed to a pro-inflammatory scenario together with high energy demand for expenditure on antioxidant metabolism, indicating possible overload or reduction in liver functionality.

Keywords: Lamb; Sheep nutrition; Additions; Tributyrin; Lacaune.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Os múltiplos efeitos do butirato	23
Figura 2 - Esqueletos de glicerol com variáveis moléculas de ácidos graxos de cadeia curta.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes e composição química do concentrado da dieta experimental.	33
Tabela 2- Desempenho zootécnico de cordeiros alimentados com Tributirina	52
Tabela 3- Morfometria in-vivo e condição corporal de cordeiros alimentados com Tributirina ao concentrado	53
Tabela 4- Bioquímica sérica e hemograma de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado.	55
Tabela 5- Parâmetros ruminais de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado.	56
Tabela 6- Metabolismo energético e status oxidativo do fígado e intestinode cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado.....	57
Tabela 7- Parâmetros da carcaça de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado	58
Tabela 8 - Qualidade da carne de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado.	59
Tabela 9 - Perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado.	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácidos graxos
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGL	Ácidos graxos livres
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
AOAC	Métodos oficiais de análise
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
C ₄ H ₈ O ₂	Ácido butírico
CK-C	Creatina quinase citosólica
CK-M	Creatina quinase mitocondrial
CMS	Consumo de matéria seca
CRA	Capacidade de retenção de água
ECC	Escore de condição corporal
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE	Extrato etéreo
EPM	Erro padrão da média
ERO	Espécie reativa de oxigênio
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FECEO	Fazenda Experimental do Centro de Educação Superior do Oeste
GGT	Gama glutamil transferase
GMD	Ganho médio diário
GPCR	Receptores acoplados a proteína G
HDACi	Inibidor da histona desacetilase
LT	Longissimus thoracis
MM	Matéria mineral
MS	Matéria Seca
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
NET	Armadilha extracelular de neutrófilos
NIRS	Espectroscopia de infravermelho próximo
NRC	National Research Council
PB	Proteína bruta
PCF	Peso da carcaça fria
PCQ	Peso da carcaça quente
PCV	Peso corporal vazio
pH	Potencial de hidrogênio
PRAM	Prova de redução do azul de metileno
SAG	Sistema agroindustrial
SAS	Software de soluções analíticas
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TGI	Trato gastrointestinal
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	PANORAMA ATUAL DA OVINOCULTURA DE CORTE NO SUL DO BRASIL.....	18
2.2	MANEJO NUTRICIONAL DE CORDEIROS DE CORTE EM CONFINAMENTO	20
2.3	ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA COMO ADITIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL	23
2.4	ÁCIDO GRAXO TRIBUTIRICO	24
3	ARTIGO 1: TRIBUTIRINA NA DIETA DE CORDEIROS LACAUNE: EFEITOS NA SAÚDE ANIMAL, METABOLISMO ENERGÉTICO, AMBIENTE RUMINAL E CARNE	29
3.1	INTRODUÇÃO	30
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.2.1	Aditivo Tributirina.....	32
3.2.2	Animais, desenho experimental e dieta	33
3.2.3	Desempenho zootécnico	35
3.2.4	Perfil hematológico e bioquímica sérica	35
3.2.5	Parâmetros ruminais.....	36
3.2.6	Abate e coleta de amostras	36
3.2.7	Metabolismo energetico e status oxidativo no fígado e intestino	37
3.2.8	Características da carcaça e qualidade da carne	38
3.2.8.1	<i>Cor e capacidade de retenção de água.....</i>	38
3.2.8.2	<i>Composição química e perfil de ácidos graxos</i>	39
3.2.8.3	<i>Cor e capacidade de retenção de água.....</i>	40
3.2.8.4	<i>Composição química e perfil de ácidos graxos</i>	41

3.2.9	Análise estatística	42
3.3	RESULTADOS	44
3.3.1	Desempenho do confinamento	44
3.3.2	Perfil hematológico e bioquímica sérica	44
3.3.3	Parâmetros ruminais.....	44
3.3.4	Metabolismo energético e status oxidativo	45
3.3.5	Carcaça e qualidade da carne	46
3.4	DISCUSSÃO	46
3.5	CONCLUSÃO.....	51
3.6	TABELAS E FIGURAS.....	52
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
	REFERÊNCIAS.....	64
	ANEXO A – COMPROVANTE DO CEUA	71

1 INTRODUÇÃO

O ácido butírico é retratado na literatura como aditivo principalmente na forma de butirato de sódio e outros sais (Na, K, Mg e Ca) (Araujo et al., 2016). Quando se trata da sua função na estimulação do desenvolvimento ruminal ele serve como uma fonte de energia chave para as células epiteliais ruminais e estimulação da expressão gênica na proliferação de células epiteliais e maturação ruminal (Sakata e Tamato, 1978; Kowalski et al., 2015; Murayama et al., 2023) e, finalmente, redução da apoptose (Guo et al., 2021).

Em experimentos, quando usado ovinos suplementados com butirato exógeno descobriram funções estomacais com potencial de melhorar o desenvolvimento do rúmen, omaso e abomaso (Górka et al. 2018), melhorar ganho de peso no período de aleitamento (Cavani et al, 2015) e estimular bactérias produtoras de AGCC de bezerros (Liu et al., 2022).

Apesar destes múltiplos benefícios sugerirem que o ácido butírico possui bom potencial para ser amplamente adicionado à dieta com o objetivo de melhorar a saúde e o desempenho dos animais ruminantes, suas características implicam no uso de tecnologias de encapsulamento para formação de matrizes de glicerídeos; em sua forma pura, o butirato possui odor desagradável, comportamento volátil e instável ao ambiente (Bedford & Gong, 2018). Para superar isso, moléculas de ácido butírico são esterificadas como mono-, di- e tributirato (Figura 1). Comparada ao ácido butírico e seus sais, a Tributirina (TB) é mais estável e com menor odor, assim permitindo uma liberação mais lenta, para atingir o TGI inferior, e anular a possibilidade de rejeição ao consumo por parte dos animais.

A Tributirina abrange complexa interação entre dieta, microbiota intestinal, metabolismo energético e imunidade (Den Besten et al., 2013; Bedford & Gong, 2018, Alarcon et al., 2018). Nos últimos anos, tem atraído muita atenção sendo amplamente utilizada como aditivo alimentar em dietas para melhorar a saúde e o desempenho de ruminantes, pois, ela pode ser metabolizada em três moléculas livres de ácido butírico no trato gastrointestinal (TGI) dos animais. Em ovelhas adultas da raça Han, a suplementação dietética com Tributirina

demonstrou melhorar o crescimento microbiano ruminal e os metabólitos, resultando assim em maior atividade das bactérias fibrolíticas e utilização de nutrientes dietéticos (Ren et al., 2018). Sob mecanismos da imunidade, o butirato participa do recrutamento de moléculas da imunidade inata (Carreta et al., 2016; Kasubuchi et al., 2015; Masmeijer et al., 2020). Para bezerros leiteiros pré-desmamados Górká et al., (2018) e Liu W et al. (2021) mostraram que a Tributirina adicionada ao substituto do leite poderia promover o desenvolvimento intestinal através do aumento da barreira intestinal e da atenuação da resposta inflamatória.

Na prática, o uso da Tributirina é consolidada na produção de suínos (Murray et al., 2018; Sotira et al., 2020), aves (Kovanda et al. 2019; Giacomini et al. 2022) e organismos aquáticos (Liang et al., 2021; Palma et al., 2022; He et al., 2022), pois demonstrou-se potente promotor de crescimento e funções antibióticas efetivas. No entanto, efeito da suplementação de Tributirina em ovinos foi investigado por um número limitado de estudos com resultados contrastantes. Em cordeiros recém desmamados Li Y. et al, (2018), ofertando na dieta basal diferentes aditivos de mono-, di- e tri-gliceróis, atribuíram a Tributirina papel positivo na degradação da fibra ruminal que, aliado a outros ésteres de glicerol, aumentou o desempenho zootécnico no ganho médio diário, sem efeito no microbioma ruminal. Por outro lado, Watanabe et al., (2021) avaliando diferentes doses de Tributirina protegida ou não protegida não observaram contribuição do aditivo no crescimento, peso final, ganho médio diário (GMD), proporção ganho: ração, rendimento de carcaça quente e rendimento de carcaça.

Nossa hipótese é que além do desenvolvimento pós-natal e pós desmame, a Tributirina possui um bom potencial para melhorar ganhos zootécnicos semelhantes no período de engorda com efeito imunomodulador e alterações na qualidade da carne. Portanto, para avaliar este potencial, o presente experimento foi conduzido com objetivo de determinar se a Tributirina (TB) para cordeiros Lacaune tem efeitos de desempenho no confinamento, parâmetros bioquímicos e enzimáticos, na carcaça e qualidade da carne para

fornecer um estudo científico que auxilie na compreensão e utilização da Tributirina como aditivo alimentar na dieta de pequenos ruminantes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PANORAMA ATUAL DA OVINOCULTURA DE CORTE NO SUL DO BRASIL

O Brasil comporta um rebanho de aproximadamente 20.537.474 milhões de ovinos, distribuídos nas diferentes regiões do país, sendo que a região Nordeste possui maior rebanho, seguida da região Sul (FAO, 2021). Os estados da região Sul possuem características em comum na produção de ovinos, de modo que, podemos observar que a maioria das propriedades possuem entre 5 a 50 hectares, demonstrando pertencerem a agricultura familiar (IBGE, 2019). O que é favorável para a cadeia produtiva da ovinocultura, tendo em vista que a produtividade está mais ligada à tecnificação e desenvolvimento de um sistema de alta produtividade, do que às grandes propriedades com número elevado de animais (Maciel et al., 2019).

Santa Catarina se posiciona como 3º maior rebanho da região Sul do Brasil com 342.460 cabeças, representando 1,6 %, ficando atrás dos estados do Paraná (2,8%) e do Rio Grande do Sul (14,3%). O rebanho ovino catarinense apresentou maiores taxas de crescimento entre 2019 e 2020, variação positiva de 8,8% (IBGE, 2020).

Tomando uma análise externa do ambiente, quando comparado ao Nordeste, a região Sul possui menor número de estabelecimentos de agricultura familiar na atividade pecuária, densidade e proporção de animais por habitante (IBGE, 2017). Porém, ainda assim, é fato interessante que o Sul obteve maior valor da produção, com mais de R\$ 2,59 milhões de reais em 2017, enquanto a região Nordeste teve pouco mais que R\$ 977 mil reais, considerando aqueles estabelecimentos com produção no período em que foram levantados os dados do Censo Agropecuário 2017 (IBGE, 2017). É possível que, esta notória diferença seja pela organização dos pequenos e médios produtores em programas associativos.

O Rio Grande do Sul, por sua vez, destaca-se na região Sul do país devido ao seu território historicamente atrelado à criação/produção da espécie ovina. Com destaque atual para a região oeste dos campos sulinos, caracterizada pelos

campos finos e maiores extensões de terra, predominando assim a produção ovina em sistemas extensivos (Bettencour et al., 2020).

Até poucos anos, sob domínio de pecuaristas familiares – o cenário assemelha-se ao verificado já no século XIX, a principal finalidade da ovinocultura no Rio Grande do Sul era de subsistência e troca de animais, sendo apenas 26% dedicados a práticas comerciais da criação ovina – cria, recria e engorda. Sendo a bovinocultura a principal atividade econômica, de maneira que, muitas vezes, os ovinos eram criados de forma secundária. Isso refletia que 36% do efetivo do rebanho ovino gaúcho se encontrava em propriedades de até 200 hectares. Atualmente, a fronteira oeste do estado se mantém como principal produtora de ovinos, participando em 39% do rebanho gaúcho (IBGE, 2016).

No Paraná, as associações de produtores representam valioso instrumento de fortalecimento da atividade econômica e social, tornando a ovinocultura mais competitiva, assumindo, desta forma, um caráter cada vez mais profissional e intensivo (Ramos et al., 2014). Este modelo possibilita que indivíduos isolados e, por isso mesmo, com menos condições de enfrentar o mercado, possam aumentar sua competitividade, diluírem riscos e tornar a atividade como alternativa, evitando características de monoculturas, uma vez que, a estrutura fundiária e perfil econômico no Sul do Brasil não são compatíveis com este meio de exploração (Debortoli et al., 2017).

A ovinocultura da carne sofre alguns desafios organizacionais e de orientação técnica que entravam o desenvolvimento adequado da atividade: heterogeneidade de animais vivos para o abate, ocorrência de abate nas propriedades, informalidades de comércio e propagandas que desmotivam seu consumo mesmo diante dos diversos modos de criação (Maciel et al., 2019). O senso do IBGE 2019, demonstra alta atividade comercial diretamente nas propriedades, problema comum em todos os estados da região Sul e em todos os estágios da cadeia na criação–comercialização, abate e processamento, que dificulta a organização legal e economicamente viável para produtores e frigoríficos.

Com base na atual estrutura produtiva, e considerando as mudanças na configuração do setor após a década de 1990 – auge do “boom” da crise da lã –

há indícios de uma reorientação da ovinocultura na região Sul, voltando-se para produção de carne ovina. Corroborando esse aspecto, Ramos et al., (2014) e Maciel (2019) indicaram tendências positivas para a articulação dos SAGs (Sistemas Agroindustriais) da carne ovina, pois, diversos agentes de desenvolvimento vêm atuando no sentido de explicar e conjecturar mercados para esta atividade pecuária familiar. A exemplo de trabalhos conjuntos entre organizações corporativas, instituições de ensino, pesquisa e extensão, e outros órgãos públicos e privados que elaboram políticas públicas direcionadas à categoria e formulação de estratégias e tomada de decisões para os ovinocultores. No mesmo sentido, esforços de articulação dos atores envolvidos na ovinocultura regional, como encontros, seminários, exposições, leilões e simpósios, centrados na elevação da competitividade do setor são observados com maior intensidade.

Ramos et al., (2014) e Maciel et al., (2019) enfatizaram que, para tanto, é necessário o desenvolvimento de medidas de incentivo ao abate formal de animais jovens, incluindo o desenvolvimento de técnicas de manejo, produção rural e industrial mais eficiente, para tornar a comercialização dos produtos mais competitiva. Pois, em linhas gerais, a sustentabilidade do agronegócio da ovinocultura de corte vivencia um ambiente de grandes possibilidades competitiva, porém, alta instabilidade.

2.2 MANEJO NUTRICIONAL DE CORDEIROS DE CORTE EM CONFINAMENTO

Paralela a terminação de cordeiros em sistema mais extensivo de produção, em que abate dos animais ocorre em idade mais avançada, a terminação em confinamento obtém carne de animais jovens com tendência a ser mais macia (Paulino et al., 2013). Neste cenário de criação, geralmente, há maior representatividade de propriedade que tem o intuito de ofertar dietas balanceadas na fase de terminação, de forma que o animal aplique reduzida seleção ao alimento e esteja menos sujeito a efeitos de sazonalidades no consumo, quando comparadas a práticas extensivas (Bettencour et al., 2020).

Inclusive, é um sistema que permite incorporação de aditivos na alimentação de forma mais controlada (Beegle et al., 2000).

O tipo de sistema de criação/produção confinada pode ser utilizado com eficiência na alimentação de cordeiros na fase de cria, tendo acelerada terminação com boa funcionalidade tanto em propriedades com dupla aptidão, aquelas que destinam machos da cadeia leiteira para fins de abate, quanto em propriedades que adquirem animais já desmamados com o mesmo objetivo (Alves et al., 2020). Nestes sistemas, o abate pode ser uma alternativa zootécnica eficiente para produção de carne ovina de qualidade e padronização das carcaças. O confinamento é uma via quando diz respeito a fatores como velocidade de acabamento, conversão alimentar e valorização dos ovinos em função da proporção dos componentes corporais da carcaça, bem como garante a regularidade da oferta de carne durante todo o ano (Osório et al., 2002; Poli et al., 2008).

Avaliando aspectos econômicos, Barros et al. (2009), relataram redução da idade e maior valor agregado à carcaça no preço de nivelamento para cobrir o custo total de produção quando avaliados cordeiros confinados desmamamos aos 60 dias, tendo em vista que a terminação de ovinos em confinamento apresenta elevado custo de produção. A importância da eficiência alimentar é estudada sob perspectiva econômica, pois, a ingestão residual e o ganho de peso corporal são positivamente correlacionados com o ganho médio diário e taxa de crescimento relativo. Animais eficientes possuem maior relação consumo residual X ganho de peso corporal, estes apresentaram desempenho satisfatório e melhores resultados econômicos (Lima et al, 2017).

O sistema de terminação em confinamento (20% volumoso e 80% de concentrado) influenciou o desempenho animal e a qualidade da carne de cordeiros mestiços Texel X Santa Inês quando comparados a animais criados extensivamente. O peso de abate (35 kg) foi alcançado aos 159 dias, proporcionando melhores ganhos no desmame (90 dias) ao abate, melhor rendimento e compacidade de carcaça e, por fim, qualidade de carne mais macia (Gallo et al., 2019).

Melhorias na eficiência alimentar são comumente observadas quando animais ruminantes são alimentados com dietas hiper concentradas em comparação a dietas de alto volumoso (Paulino et al., 2013). Esta é alternativa tecnológica possível de ser adotada, porém, deve ser motivo de cautela em dietas com alta proporção de ingredientes concentrados. Por isso, é mais seguro o uso de um teor mínimo de fibra capaz de estimular a mastigação e ruminação mesmo que pequenos ruminantes sejam mais receptivos a dietas com baixo teor de fibras. Ração concentrada com no mínimo 15% de fibra em detergente neutro (FDN) com base na MS foi capaz de manter boa fermentação e síntese de proteína microbiana em níveis adequados, sem alterações nos parâmetros de desempenho e características de carcaça (Gallo et al., 2019).

Saccol et al. (2020) ao trabalharem com cordeiros machos mestiços (Texel x Ile de France) não castrados, conseguiram antecipar o peso de abate proposto (35 kg). Neste trabalho, cordeiros em pasto nativo de azevém foram terminados aos 278 dias, enquanto os cordeiros que consumiram concentrado em confinamento levaram 77 dias para atingir o mesmo peso. Ainda, os animais apresentaram maior ganho médio diário (GMD), melhor conversão alimentar (CA), melhores características biométricas *in vivo*, conformação de carcaça, e maior deposição de gordura. Bernardes et al. (2015), ao avaliarem o desempenho de cordeiros Texel, desmamados aos 50 dias com 4 dietas de alto grão, observaram no alto grão de milho melhor escore de condição corporal (ECC), GMD e CA, o que levou à redução do número de dias necessários para atingir o peso de abate (32 kg).

O fornecimento de suplemento concentrado e feno de capim-tifton 85 *ad libitum* para cordeiros Santa Inês x SRD (20,58 kg), possibilitou maiores índices de desempenho. No trabalho de Alves et al., 2020, estes animais foram melhores no peso vivo final (PVF), GMD, peso de carcaça quente (PCQ), rendimento de carcaça quente (RCQ) e rendimento de cortes cárneos (RCC) em quilogramas, quando comparados aos suplementos mineral, mineral com ureia e proteinado .

Tendo em vista que a proporção de proteína para ruminantes jovens está ligada ao crescimento e deposição de gordura, Batista et al. (2016), trabalhando com ração concentrada isoenergética e diferentes níveis proteicos (15, 17, 19 e

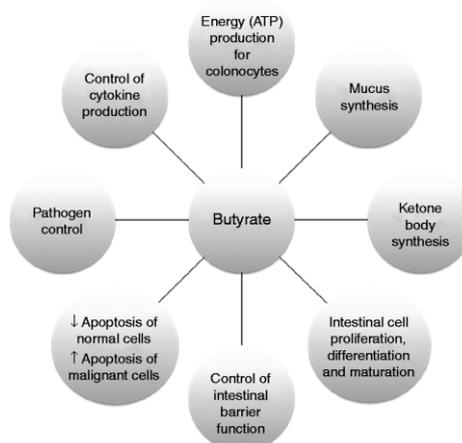
21%) para cordeiros confinados Lacaune não castrados (15,8 kg inicial), obtiveram maior rendimento de pernil e lombo, cortes considerados de maior valor.

2.3 ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA COMO ADITIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL

O grupo de aditivos zootécnicos em sua extensão desperta interesse devido a ampla utilização na nutrição animal, como melhoradores de desempenho, antibióticos, moduladores da saúde, além de reduzir os custos com fármacos.

Os ácidos graxos orgânicos (AGO) formam um grupo de aditivo zootécnico que muito desperta interesse, uma vez que possuem ampla finalidade dentro das cadeias de produção animal –na emulsão para redução de organismos patogênicos na carne ovina e caprina (Dubal et al., 2004; Abd Ellatif et al., 2020) e já observado em aves (Thomar et al., 2006), além da função de manipulador da fermentação ruminal e melhoradores de desempenho do crescimento animal (Guilloteau et al., 2010; Carro e Ungerfeld, 2015; LI et al., 2012).

Figura 1 - Os múltiplos efeitos do butirato



Fonte: Adaptado Guilloteau et al.,2010

Ácidos orgânicos graxos de cadeia curta (AGCC), por exemplo, são grupo de moléculas que abrangem complexa interação entre dieta, microbiota intestinal, metabolismo energético e imunidade do hospedeiro (Den Besten et al., 2013; Bedford & Gong, 2018, Alarcon et al., 2018). São classificados como de cadeia curta porque possuem de 1 a 6 carbonos e podem assumir derivados em forma de glicerídeos, incluindo mono-, di- e tri-, pois consistem em número variado de moléculas de AGCC's ligadas a um esqueleto de glicerol (Figura 1).

Figura 2 - Esqueletos de glicerol com variáveis moléculas de ácidos graxos de cadeia curta.

Saturated fatty acids	Number of carbon atoms	Structure formula	Monoglycerides (mono-ester)	Number of carbon atoms	Structure formula	Triglycerides (tri-ester)	Number of carbon atoms	Structure formula
Butyric acid	C4:0	$\begin{array}{c} \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{O} \\ & & & // \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C} \\ & & & \\ \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{O}-\text{H} \end{array}$	Monobutylin	C4:0	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-\text{R} 1 \end{array}$	Tributylin	C4:0	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-\text{R} 1 \\ \\ \text{OH}-\text{O}-\text{C}-\text{R} 2 \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-\text{R} 3 \end{array}$
Caprylic acid	C8:0	$\begin{array}{c} \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{O} \\ & & & // \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C} \\ & & & \\ \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{O}-\text{H} \end{array}$ Butyric acid	Monocaprylin	C8:0	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-\text{R} 1 \\ \\ \text{OH}-\text{O}-\text{C}-\text{R} 2 \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-\text{R} 3 \end{array}$			
Capric acid	C10:0		Monocaprin	C10:0				
Lauric acid	C12:0			Monolaurin				C12

Fonte: Adaptado de Masmeyer et al., 2020.

2.4 ÁCIDO GRAXO TRIBUTIRICO

O ácido butírico ou butinóico (C₄H₈O₂), é um AGCC de quatro carbonos que na sua forma pura possui odor pungente, instável e desagradável. Para superar isso, diferentes fontes de ácido butírico, incluindo sais de butirato (Na, K, Mg, Ca) e glicerídeos butirato (mono-, di- e tributirato) encapsulados têm sido usados com resultados variáveis em rações para animais de criação (Donovan et al., 2016; Palma et al., 2022). Essas tecnologias de formação de matriz de triglicerídeos permiti uma liberação mais lenta para atingir o TGI inferior e anular a possibilidade de rejeição ao consumo por parte dos animais.

Apesar de ser o menos abundante dos AGCC's primários, o butirato é importante, pois é metabólito crucial das células epiteliais da extensão do intestino onde demonstrou ter efeitos benéficos, desde sua influência na predominância da microbiota intestinal (efeito probiótico), respostas inflamatórias, molde e regulação do sistema imunológico até sua ligação com a deposição de tecidos periféricos sob vários mecanismos (Guilloteau et al., 2010).

Posto isso, gliceróis de butirina também estão envolvidos na regulação de várias funções corporais sob diferentes condições nutricionais e metabólicas dos animais.

A Tributirina, tributilglicerol ou esteroide de butirato é composta por três moléculas de ácido butírico esterificadas em um esqueleto de glicerol. O local de liberação do produto e o uso de formas revestidas ou não revestidas dependem do objetivo da suplementação e devem ser levados em consideração durante a otimização da dieta. Quando ingerido oralmente como aditivo na dieta, em condições específicas, parece ser capaz de atuar em órgãos periféricos (músculo esquelético, tecido adiposo marrom, fígado etc.) (Guilloteau et al., 2010).

Para via de ganho nos tecidos periféricos e regeneração muscular, o butirato alcançou interesse crescente como substância epigenética pela inibição das histonas desacetilases HDACi. Efeito este relacionado a regulação na expressão gênica e proliferação celular da prole. A Tributirina foi potente promotor do crescimento muscular via alteração da miogênese das células satélites (Murray et al., 2018).

Para outras espécies como em suínos a Tributirina promoveu modulação da microbiota e saúde intestinal (HE et al., 2015) e se mostrou potente promotor de crescimento e desempenho em leitões (Murray et al., 2018; Sotira et al., 2020). Em frangos houve efeito promotor de crescimento, desempenho semelhante a antibióticos e respostas imune positivas (Giacomini et al., 2022).

A suplementação com Tributirina melhorou o desempenho de crescimento em peixes (Palma et al., 2022), aumentando a capacidade antioxidante, imunológica e atividade anti-inflamatórias (He et al., 2022) e preveniu danos hepáticos e intestinais (Liang et al., 2021).

Melhorar o desenvolvimento do epitélio do rúmen pode levar a um melhor desempenho animal, especialmente no início da vida. Quando tratamos de animais ruminantes, mais especificamente em ensaios *in vivo*, são diversos os objetivos do uso de gliceróis butirato para fins de manipulação do epitélio ruminal na fase pós-natal até o pós-desmame, facilitando a transição para dieta sólida

em bezerros. Pois, o epitélio do rúmen é responsável por funções fisiológicas fundamentais como absorção, transporte e metabolismo de AGCC.

Estudada como aditivo no leite pasteurizado ou sucedâneo do leite para bezerros, a Tributirina aumentou o desempenho de crescimento, saúde, alívio do estresse oxidativo e estado inflamatório, estimulando a colonização de bactérias produtoras de AGCC's de bezerras no pré-desmame (Liu S et al., 2022) e modulou a dinâmica da glicose e da insulina a partir dos 12 dias de idade, mas não aumentou o desempenho zootécnico (Araújo et al., 2013). Sob aspectos intestinais, sais de butirato (Na-butirato) melhorou a função da barreira intestinal e, conseqüentemente, melhorou o desenvolvimento intestinal e a saúde (Górka et al., 2018; Liu et al., 2021). Em touros em crescimento sais de butirato afetou positivamente as dimensões das papilas ruminais, sugerindo um efeito positivo na fermentação ruminal e estrutura do epitélio em locais específicos do rúmen (Kowalski, Gorka, et al., 2015).

Respostas imune a suplementação de gliceróis de butirato surgem atreladas a modulação de células imune em condição de suplementação em campo. Além da estimulação do epitélio ruminal, o butirato pode atuar como moléculas de transdução de sinal via receptores acoplados à proteína G no intestino, principalmente os receptores FFARs₂₋₃ de ácidos graxos livres (AGL). Estes são expressos principalmente em células imunes, incluindo neutrófilos, eosinófilos, células dendríticas e monócitos, indicando um amplo papel nas respostas inflamatórias e imunes (Kasubuchi et al., 2015; Li et a., 2018). Em bovinos, estes receptores estão presentes nas células epiteliais do rúmen e nos fagócitos, que são leucócitos do sangue que protegem o corpo através da ingestão (fagocitose) de partículas estranhas (Masmeijer et al., 2020; Li et a., 2018). A produção de neutrófilos, monócitos, macrófagos, EROs (espécie reativas de oxigênio) e citocinas pró e anti-inflamatórias (IL-10, TNF- α , il-17A) variaram com a dose e a duração da suplementação de mono e Tributirina (Masmeijer et al., 2020).

Ainda na função imune, o butirato foi relatado como regulador de programas metabólicos e transcricionais de leucócitos em desenvolvimento, especialmente na diferenciação para macrófagos (Shulthess et al., 2019) e

neutrófilos (Tizard Ian R., 2014) o que pode contribuir para o aumento da produção de ERO dependente de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADPH)-oxidase (NOX) em que podemos observar função antimicrobiana. Esta função pode ser induzida mesmo na ausência de alterações na produção de citocinas inflamatórias (Shulthess et al., 2019).

Quando utilizada em situação de estresse térmico em vacas leiteiras, a Tributirina diluída na dieta basal reduziu significativamente conteúdos de aspartato aminotransferase (AST), creatinina, albumina e globulina e aliviou sobrecarga dos rins e fígado provocada pelo estresse calórico através da redução de mediadores pró- inflamatórios por linfócitos IL-6, TNF- α e IL-1 β no sangue periférico (Guo et al., 2021).

Em ovinos, também predominam os ensaios com objetivo de manipulação ruminal e desempenho no crescimento. Um dos primeiros trabalhos com butirato ocorreu de forma intraruminal, pois, já era de conhecimento que este ácido poderia ter efeito promotor do fluxo sanguíneo local, porém, em doses muito altas como no relato de Sakata e Tamato (1978) pode causar ligeira alteração inflamatória ou danos ao tecido epitelial levando a proliferação de tecido apenas de forma momentânea à recuperação. Em cabras e vacas em lactação foi observada sensibilidade a Tributirina intraruminal, causando hipoglicemia e hipercetonemia semelhantes à condição cetótica, aumentando concentrações plasmáticas de glicose, ácidos graxos livres e insulina no sangue (Drackley et al., 1989; Hamada et al., 1984).

Cavini et al. (2015) investigaram o efeito do aditivo butirato de sódio na dieta concentrada de cordeiros no crescimento e características do rúmen na fase de amamentação e desmame. Eles descobriram que a suplementação aumentou significativamente o peso da carcaça quente (PCQ) e a porcentagem de rendimento ao abate, mas sem efeito microbioma ruminal. Em ovelhas adultas de ± 55 kg, o efeito da Tributirina reduziu a ingestão de MS e aumentou a síntese de N microbiano no rúmen, imputando a Tributirina a provocação de estímulos a produção de proteína microbiana e fermentação ruminal (Ren et al., 2018).

Em cordeiros recém desmamados Li Y. et al, (2018), ofertando na dieta basal diferentes aditivos de mono-di e tri gliceróis, atribuíram a Tributirina papel

positivo na degradação da fibra ruminal que, aliado a outros ésteres de glicerol, aumentou o desempenho zootécnico no ganho médio diário, mas sem efeito no microbioma ruminal.

Fica evidente que o butirato, na diversidade de seus sais e moléculas de gliceróis, está ligado às alternativas de promotores e antibióticos na produção animal de forma direta e indireta. Direta devido suas implicações objetivas no microbioma ruminal e pós ruminal (TGI inferior) e indireta devido sua função imunomoduladora.

3 ARTIGO 1: TRIBUTIRINA NA DIETA DE CORDEIROS LACAUNE: EFEITOS NA SAÚDE ANIMAL, METABOLISMO ENERGÉTICO, AMBIENTE RUMINAL E CARNE

Os resultados desta dissertação foram apresentados na forma de artigo submetido com a seções de acordo com as orientações da Small Ruminant Research em inglês.

Ana Iris S. dos Santos^a, Julcemar D. Kessler^b, Bruna Klein^b, Andrei Brunetto^a,
Guilherme L. Deolindo^c, Luiz Eduardo L. Silva^d, Roger Wagner^d, Manoela
Roberts de Melo^e, Matheus D. Baldissera^e, Aleksandro S. Da Silva^{c*}

^aPrograma de Pós-graduação Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Chapecó, Brasil.

^bDepartamento de Zootecnia, UDESC, Chapecó, Brasil.

^cPrograma de Pós-graduação multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular, UDESC, Lages, Brazil.

^dDepartamento de Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Brazil.

^eCentro de ciências da Saúde, Universidade Franciscana, Santa Maria, Brazil.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar se a adição de tributirina na dieta de cordeiros impacta na saúde animal, metabolismo energético, ambiente ruminal e qualidade de carne. Utilizou-se 12 cordeiros, no qual o grupo controle recebeu uma dieta basal e o grupo Tributirina, que recebeu dieta com o aditivo tributirina misturado ao concentrado (2 g/dia/animal). O consumo de tributirina nessa dose não influenciou no desempenho de crescimento dos cordeiros, assim como no

consumo de alimentos. A contagem de leucócitos e linfócitos foi maior em animais alimentados com tributirina comparado ao controle. Maior atividade das enzimas adenilato quinase e piruvato quinase no fígado e intestino foi mensurada no grupo tratamento comparado ao controle; enquanto atividade de creatina quinase citosólica foi maior no intestino dos cordeiros alimentados com tributirina. A atividade da glutathione s-transferase do fígado foi maior nos animais do grupo Tributirina. Já no intestino, a atividade da superóxido dismutase foi maior, combinada a menor concentração de proteína carbonila no grupo Tributirina. A atividade bacteriana no fluido ruminal foi menor quando consumiram tributirina, diferente da contagem de protozoários que foi maior nos animais do grupo Tributirina comparado ao controle. A ingestão de tributirina causou interação tratamento x dia, sendo verificado menores níveis de ácidos graxos de cadeia curta; no entanto, sem alterar a proporção de ácidos graxos voláteis. Não foram observadas diferenças para as características de rendimento de carne, características físicas e químicas, exceto pela capacidade de retenção de água (CRA) que foi maior na carne dos animais Tributirina. Houve efeito do tratamento para alguns ácidos graxos na carne dos cordeiros, o que acarretou na menor quantidade de ácidos graxos saturados e maior quantidade de ácidos graxos monoinsaturados na carne dos cordeiros que consumiram tributirina.

Palavras-chave: Aditivo; Produção animal; Tributirina; Ácidos graxos

3.1 INTRODUÇÃO

O ácido butírico é apresentado na literatura como aditivo, principalmente na forma de butirato de sódio e outros sais (Na, K, Mg e Ca) (Araujo et al., 2016). Quando se trata da sua função na estimulação do desenvolvimento ruminal ele serve como uma fonte de energia chave para as células epiteliais ruminais e estimulação da expressão gênica na proliferação de células epiteliais e maturação ruminal (Sakata e Tamato, 1978; Kowalski et al., 2015; Murayama et al., 2023) e também na redução da apoptose (Guo et al., 2021).

Em experimentos, quando ovinos consumiram butirato foi verificadas funções estomacais com potencial de melhorar o desenvolvimento do rúmen, omaso e abomaso (Górka et al. 2018), melhorar ganho de peso no período de aleitamento (Cavani et al, 2015) e estimular bactérias produtoras de ácidos graxos de cadeia curta de bezerros (Liu et al., 2022). Apesar destes múltiplos benefícios sugerirem que o ácido butírico possui bom potencial para ser amplamente adicionado à dieta com a hipótese de melhorar a saúde e o desempenho dos ruminantes, suas características implicam no uso de tecnologias de encapsulamento para formação de matrizes de glicerídeos; pois em sua forma pura, o butirato possui odor desagradável, comportamento volátil e instável ao ambiente (Bedford e Gong, 2018); mas para evitar esse problema, moléculas de ácido butírico são esterificadas como mono-, di- e tributirato. Comparada ao ácido butírico, a tributirina (TB) é mais estável e com menor odor, assim permitindo uma liberação mais lenta, para atingir o TGI inferior, e anular a possibilidade de rejeição ao consumo por parte dos animais.

A tributirina abrange complexa interação entre dieta, microbiota intestinal, metabolismo energético e imunidade (Den Besten et al., 2013; Bedford e Gong, 2018, Alarcon et al., 2018). Nos últimos anos, tem atraído muita atenção, sendo amplamente utilizada como aditivo alimentar em dietas para melhorar a saúde e o desempenho de animais de produção, pois, ela pode ser metabolizada em três moléculas livres de ácido butírico no trato gastrointestinal (TGI) dos animais. Em ovelhas adultas a adição de Tributirina demonstrou melhorar o ambiente ruminal e os metabólitos, resultando assim em maior atividade das bactérias fibrolíticas e utilização de nutrientes dietéticos (Ren et al., 2018). Sob mecanismos da imunidade, o butirato participa do recrutamento de moléculas da imunidade inata (Carreta et al., 2016; Kasubuchi et al., 2015; Masmeijer et al., 2020). Para bezerros leiteiros pré-desmamados, pesquisadores demonstraram que a tributirina adicionada ao substituto do leite poderia promover o desenvolvimento intestinal através do aumento da barreira intestinal e da atenuação da resposta inflamatória (Górka et al., 2018; Liu W et al. 2021).

Na prática, o uso da tributirina é consolidada na produção de suínos (Murray et al., 2018; Sotira et al., 2020), aves (Kovanda et al. 2019; Giacomini et al. 2022)

e organismos aquáticos (Liang et al., 2021; Palma et al., 2022; He et al., 2022), pois demonstrou-se potente promotor de crescimento e funções antibióticas efetivas. No entanto, efeito da tributirina na dieta de ovinos são pouco conhecidos; além disso apresentam efeitos diferentes para mesmas variáveis. Em cordeiros recém desmamados, uma dieta basal com os aditivos de mono-, di- e tri-gliceróis, permitiu aos pesquisadores atribuírem a tributirina papel positivo na degradação da fibra ruminal (Li et al., 2018), que aliado a outros ésteres de glicerol, potencializou no ganho de peso médio diário, mesmo sem efeito no microbioma ruminal. Por outro lado, Watanabe et al. (2021) avaliando diferentes doses de tributirina protegida ou não protegida na dieta de ovinos, não observaram contribuição do aditivo no crescimento, peso final, ganho médio diário (GMD), proporção ganho: ração, rendimento de carcaça quente e rendimento de carcaça.

Nossa hipótese, é que a tributirina terá efeito sobre a flora e perfil de AVGs no ambiente ruminal, assim como chegar ao intestino, onde será usado pelos enterócitos, favorecendo a saúde intestinal e consequentemente a saúde animal. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar se a adição de tributirina na dieta de cordeiros impacta na saúde animal, metabolismo energético, ambiente ruminal e qualidade de carne.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UDESC sob o número 46844151222 (Anexo A).

3.2.1 Aditivo Tributirina

O aditivo utilizado neste estudo foi produto comercial à base de moléculas protegidas de glicerídeos de ácido butírico, Tributirina Villonat, Feedis® (Salto - São Paulo, Brasil).

3.2.2 Animais, desenho experimental e dieta

O experimento foi conduzido em Fazenda Experimental do Centro de Educação Superior do Oeste da Universidade do Estado de Santa Catarina, localizada na cidade de Guatambu (Sul do Brasil). A FECEO – UDESC situada na latitude 27° 8'5" Sul, longitude 52° 47' 15" W entre março e junho de 2023.

Doze cordeiros machos castrados da raça Lacaune ($2,5 \pm 0,5$ meses de idade e 21 ± 2 kg) foram alojados em baias de 3 m² de madeira equipadas de bebedouros e comedouros individuais com duração de 79 dias. A distribuição das baias nos respectivos tratamentos na instalação foi sequencial para evitar interferências ambientais. Neste período, todos os animais foram tratados preventivamente com anti-helmíntico Ripercol à base de 5% de Cloridrato de Levamisol (RIPERCOL®).

A dieta basal foi formulada com exigências nutricionais para cordeiros em crescimento, de acordo com NRC (2007). A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia (08:30 am e 15:30 pm) numa proporção 75:25 para concentrado:volumoso. A quantidade de alimentos fornecido aos animais era ajustado sempre que os animais foram pesados, sendo que a TMR correspondia a 4% do peso vivo (Tabela 1).

Tabela 1 - Ingredientes e composição química do concentrado da dieta experimental.

Ingredientes (g/kg)	Composição
Milho fubá	506,00
Farelo de soja	246,00
Farelo de trigo	180,00
Núcleo mineral ¹	47,00
Calcário calcítico	20,00

Composição química ²	Grupos		
	Silagem de milho	Controle	Tributirina
MS	34,00	89,64	89,87
MM	4,60	12,01	12,37
PB	8,78	22,00	22,88
FDN	25,60	14,77	14,01
FDA	13,70	6,66	6,22
EE	2,10	3,26	3,24

¹Cálcio (min./max.) 175/245g; Fósforo (min.) 40g; Enxofre (min.) 25g; Magnésio (min.) 12g; Sódio (máx.) 100g. Matéria Mineral (máx.) 980g; Cobalto (min.) 40mg; Ferro (min.) 1.800mg; Iodo (min.) 80mg; Manganês (min.) 1.400mg; Selênio (min.) 12mg; Zinco (min.) 4.000mg; Vit. A (min.) 300.000 UI; Vit. D3 (min.) 60.000 UI; Vit. E (min.) 600 UI; Flúor (máx.) 600mg; Monensina Sódica (600mg).

²MS (matéria seca), MM (matéria mineral), PB (proteína bruta), FDN (fibra em detergente neutro), FDA (fibra em detergente ácido), EE (extrato etéreo).

³Concentrado basal – usado em todos os grupos. A composição química do concentrado dos dois grupos foi igual;isto é, a Tributirina não alterou a composição química do concentrado consumido pelos cordeiros.

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais: 6 animais receberam a ração concentrada contendo 2 g/dia/animal do aditivo tributirina, enquanto outros 6 animais receberam ração concentrada sem o aditivo. Essa dose de tributirina adicionado ao concentrado durante sua produção foi calculado com base na informação de consumo de concentrado/dia. Amostras de silagem de milho e concentrado foram coletadas para determinação da composição química para matéria seca (MS); proteína bruta (PB); extrato etéreo (EE) e cinzas acordo com a AOAC (2000) (Tabela 1). Quanto as concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram pelo método de Van Soest et al. (1991).

A partir do registro da oferta e recusa da alimentação diária foram calculados o consumo de matéria seca (CMS), conversão alimentar (ganho de peso/ CMS) e eficiência alimentar por baía; para essas variáveis zootécnicas a baía foi utilizada como unidade experimental. Inclusive, o aditivo foi ajustado de acordo com este, garantindo que os animais ingerissem sempre 2 g/dia/animal.

Primeiramente, foi fornecido o concentrado e após o consumo deste, fornecida a porção volumosa (silagem de milho) com intuito de garantir máximo consumo do aditivo.

3.2.3 Desempenho zootécnico

Para avaliação de desempenho, além da pesagem para verificar o ganho de peso e o ganho de peso médio diário em cinco momentos em balança digital (dias 1, 15, 35, 45 e 70), foi realizado no mesmo dia, avaliações biométricas *in vivo* com auxílio de fita métrica para altura de posterior, altura de anterior, circunferência torácica e comprimento corporal e escore de condição corporal (ECC) de acordo com Osório (1998).

3.2.4 Perfil hematológico e bioquímica sérica

O sangue foi coletado nos dias 1, 15, 35, 45 e 70 dias do período experimental (figura 1) por meio de punção da veia jugular de animais em jejum utilizando dois tipos de tubo vacuolizados: sem anticoagulante e com EDTA como anticoagulante, transportados sob refrigeração e destinados ao hemograma e bioquímica sérica.

O sangue coletado sem anticoagulante foi centrifugado a 7,000 rpm por 10 min para segregação do soro que foi armazenado a -20°C até a realização dos ensaios bioquímicos. Atividade sérica de AST (aspartato aminotransferase), GGT (gama-glutamilttransferase), e níveis de proteína total, albumina, glicose, triglicerídeos e colesterol, cálcio, fosforo foram medidos por um analisador modelo Zybio EXC-200 utilizando kits comerciais (Analisa®, Belo Horizonte, Brasil) seguindo as recomendações do fabricante. Os níveis de globulina foram obtidos pela fórmula: (proteína total – albumina).

No sangue armazenado com EDTA foi realizado hemograma dentro de 2 horas após a coleta da amostra. A contagem de eritrócitos, total de leucócitos, e diferencial leucocitário, percentagem de hematócrito e a concentração de hemoglobina foram medidos usando um analisador hematológico automático (3 parts EQUIP VET 3000®).

3.2.5 Parâmetros ruminais

Foi coletado fluido ruminal (50 mL) após 2 horas da alimentação no período da manhã nos dias 1, 35 e 70 através de canula oro-ruminal de silicone conectada a uma bomba a vácuo. Metade do fluido (25 mL) foi filtrado e direcionado a avaliações de pH utilizando-se um potenciômetro digital portátil (TESTO 205®) e aferição da atividade funcional da microbiota ruminal por meio da prova de redução do azul de metileno (solução 0,05%), descrita por Dirksen e Breitner (1993). A determinação do tempo de redução do azul de metileno foi realizada de acordo com os métodos de Rosemberger (1993). Desta porção filtrada 2 mL foi direcionado a determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) acético, propiônico, butírico, valérico e isovalérico utilizando-se cromatógrafo a gás equipado com detector de ionização de chama (GC-FID; Varian Star 3600, Palo Alto, EUA) e amostrador automático (Varian 8200CX, Palo Alto, EUA) e os resultados foram expressos em mmol L⁻¹ de cada AGCC no fluido ruminal.

Uma alíquota não filtrada foi utilizada no processo de contagem de protozoários utilizando-se câmara de Sedgewick Rafter, onde em uma gota de diluição (10⁻¹) é contabilizada microestruturas de protozoários com objetiva de 40x pela metodologia adaptada de Burk A. Derority (1984).

3.2.6 Abate e coleta de amostras

Concluída a fase de confinamento (79 dias), os doze cordeiros foram mantidos em jejum por 12 horas e então transportados ao frigorífico para abate seguindo as normas locais. Após sangria, esfolagem e evisceração dos animais foi realizada coleta de tecido no fígado, jejuno e músculo *Longissimus thoracis* (LT) para as análises descritas a seguir.

3.2.7 Metabolismo energetico e status oxidativo no fígado e intestino

O intestino foi lavado em tampão SET (sacarose 0,32 M, EGTA 1 mM, Tris-HCl 10 mM, pH 7,4) e homogeneizado no mesmo tampão SET (1:10 p/v) com um Potter homogeneizador de tecido de vidro Elvehjem. O homogeneizado foi centrifugado a 800x g durante 10 min a 4°C. Uma alíquota do sobrenadante foi utilizada para avaliar a atividade de adenina quinase (AK); o pellet foi descartado e o sobrenadante foi novamente centrifugado a 10.000x g por 15 min a 4°C. O sobrenadante contendo citosol foi coletado para determinação da atividade PK (piruvato quinase) e CK (creatina quinase) citosólica. O sedimento, contendo mitocôndrias, foi lavado duas vezes com o mesmo tampão SET e depois ressuspenso em Trizma 100 mM e tampão MgSO₄ 15 mM (pH 7,5) para avaliar a atividade de CK mitocondrial.

A atividade intestinal da CK foi conduzida com base no método colorimétrico de Hughes (1962), que estima os níveis de creatina no comprimento de onda de 540 nm, conforme relatado detalhadamente por Baldissera et al (2017) e os resultados foram expressos como nmol de creatina formada/min/mg de proteína. A atividade AK do intestino e do fígado foi medida com um ensaio enzimático acoplado com hexoquinase (HK) e glicose 6-fosfato desidrogenase, de acordo com Dzeja (1999) e detalhado por Baldissera et al. (2017). A atividade foi expressa em pmol de ATP formado/min/mg de proteína. A atividade PK intestino e fígado foi avaliada de acordo com o protocolo estabelecido por Leong et al. (1981) e publicado em detalhes por Baldissera et al. (2017). A atividade foi expressa em μ mol de piruvato formado/min/mg de proteína.

A detecção da peroxidação lipídica sérica foi realizada por método indireto e foi expresso como substância reativa ao ácido tiobarbitúrico sérico (TBARS) de acordo com a metodologia descrita por Jentzsch et al. (1996). A atividade da glutathione S-transferase (GST) sérica foi medida utilizando a técnica descrita por Habig et al. (1974). Os resultados foram expressos como μ mol CDNB/min/mg de proteína.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com o princípio da auto-oxidação do pirogalol, que inibe a presença de SOD. A variação da densidade óptica foi determinada cineticamente durante 2 min a 420 nm, em intervalos de 10s, conforme metodologia descrita por Beutler (1984). A atividade de SOD foi expressa como U SOD/mg de proteína.

3.2.8 Características da carcaça e qualidade da carne

A aferição do pH com pHmetro portátil equipado com eletrodo penetrante (Testo® modelo 205) nos lombos (*Longissimus thoracis* (LT)) das carcaças logo após finalizada evisceração; e em seguida realizada pesagem individual dos componentes carcaça em balança digital. Estas foram resfriadas a 4 °C por 24 h para obter o peso da carcaça fria (PCF); na carcaça fria, também foi aferido pH. Os rendimentos de carcaça quente e fria foram calculados expressando o peso da carcaça quente (PCQ) e PCF como uma porcentagem do peso corporal vazio (PCV), sendo ($PCVZ = PC \text{ de abate} - [PCQ \text{ OU } PCF * 100]$). Posteriormente, as carcaças foram nervuradas na 12ª e a 13ª para obtenção do músculo LT e armazenada a -18°C até o período de análise de composição química e perfil de ácidos graxos da carne.

3.2.8.1 Cor e capacidade de retenção de água

O músculo LT foi usado para avaliar as características de qualidade da carne imediata a chegada no laboratório. A análise de cor foi realizada por espectrofotômetro portátil modelo CM-25d (Konica Minolta®) colocado na superfície do músculo para registrar luminosidade (L^*), vermelhidão (a^*) e amarelo (b^*). Todas as medições da qualidade da carne foram feitas em triplicata para cada cordeiro.

Para capacidade de retenção de água (CRA), um pedaço circular de carne (0,05 kg) de músculo LT foi pesada em balança de precisão e submetida a método absorvivo rápido de compressão externa, onde a carne é prensada entre dois filtros de papel e carregada com um bloco de 2 kg por 5 minutos como

detalhado por Honikel (2004). O valor CRA foi expresso como porcentagem da seguinte forma: $CRA (\%) = (\text{Peso final} - \text{peso inicial}) \times 100$.

3.2.8.2 *Composição química e perfil de ácidos graxos*

As amostras dos músculos LT foram descongeladas para detalhamento da composição química da carne obtidas através de um Espectrômetro de Reflectância Infravermelho Próximo (NIRS), modelo Spectra Star 2600 XT series of Near Infrared Analyzers (Unity Scientific®).

Para perfil de ácidos graxos, extração de gordura intramuscular, metilação e análise do perfil de ácidos graxos nas amostras de LT foram realizadas de acordo com Bligh e Dyer (1959) como se segue: em um tubo de polipropileno de 15 mL foi adicionado 1,5 g de músculo moído, 0,5 mL de água destilada, 5 mL de metanol e 2,5 mL de clorofórmio para sofrer agitação mecânica por 1h e 30 minutos, assim formando solução homogênea. A seguir, 2,5 mL de clorofórmio e 2,5 mL de solução de sulfato de sódio (Na_2SO_4) a 1,5% foram adicionados para promover solução bifásica e sofrer agitação mecânica por 30 minutos, logo após foi centrifugada por 10 minutos a 2.000 rpm. Os lipídios presentes na fase inferior da solução foram submetidos a quantificação de gordura por método gravimétrico e análise de ácidos graxos. Para gordura, 2,5 mL da solução obtida foi colocada em cadinho e submetida a estufa por 45 minutos a 105°C, posteriormente o cadinho foi pesado para quantificação da gordura após evaporação do clorofórmio.

A metilação de ácidos graxos (AG) foi a partir de solução previamente obtida utilizando método quantitativo de Hartman e Lago (1973). Em um tubo de vidro com tampa foi adicionada 0,8 mL de solução em 1 mL de KOH 0,4 M em metanol, mantida em banho-maria a 100°C por 10 minutos e resfriado em temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado 3 mL de H_2SO_4 1 M em metanol e novamente mantidas em banho-maria a 100°C por 10 minutos. Após resfriamento, foi adicionado 2 mL de hexano, agitado por 2 minutos em vórtex e centrifugado a 2000 rpm por 10 min. Por fim, 1 μL do hexano com os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foi submetido à análise cromatográfica.

Para caracterização dos FAME, foi utilizado cromatógrafo gasoso modelo TRACE 1310 equipado com um detector de ionização de chama (Thermo Scientific) com hidrogênio usando como gás de arraste a um fluxo constante de 1,5 mL/min. Um microlitro de amostra foi injetado em um injetor split-splitless, operado no modo split de proporção 1:10 a 250 °C.

A separação dos FAME foi usando uma coluna de cromatografia RT 2560 (100 m × 0,25 mm × 0,20 µm de filme de espessura, Restek, EUA). A temperatura inicial do forno foi programada em 100°C por 5 min e aumentada para 180 °C, a uma taxa de 8 °C/min. Em seguida, aumentando para 210°C, a uma taxa de 4°C/min, e finalmente até 240°C, aumentando 20°C/min, e mantendo por 20 min em isotérmico. A temperatura do detector foi mantida constante em 250 °C.

Os valores de ácidos graxos foram expressos em porcentagem (%) determinada pela comparação da quantidade total de ácidos graxos do padrão autêntico (MIX-37, Sigma Aldrich, St. Lois, MO). Foram calculadas as porcentagens de ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e ácidos graxos poliinsaturados (AGPI).

3.2.8.3 *Cor e capacidade de retenção de água*

O músculo LT foi usado para avaliar as características de qualidade da carne imediata a chegada no laboratório. A análise de cor foi realizada por espectrofotômetro portátil modelo CM-25d (Konika Minolta®) colocado na superfície do músculo para registrar luminosidade (L^*), vermelhidão (a^*) e amarelo (b^*). Todas as medições da qualidade da carne foram feitas em triplicata para cada cordeiro.

Para capacidade de retenção de água (CRA), um pedaço circular de carne (0,05 kg) de músculo LT foi pesada em balança de precisão e submetida a método absorvivo rápido de compressão externa, onde a carne é prensada entre dois filtros de papel e carregada com um bloco de 2 kg por 5 minutos como detalhado por Honikel (2004). O valor CRA foi expresso como porcentagem da seguinte forma: $CRA (\%) = (\text{Peso final} - \text{peso inicial}) \times 100$.

3.2.8.4 *Composição química e perfil de ácidos graxos*

As amostras dos músculos LT foram descongeladas para detalhamento da composição química da carne obtidas através de um Espectrômetro de Reflectância Infravermelho Próximo (NIRS), modelo Spectra Star 2600 XT series of Near Infrared Analyzers (Unity Scientific®).

Para perfil de ácidos graxos, extração de gordura intramuscular, metilação e análise do perfil de ácidos graxos nas amostras de LT foram realizadas de acordo com Bligh e Dyer (1959) como se segue: em um tubo de polipropileno de 15 mL foi adicionado 1,5 g de músculo moído, 0,5 mL de água destilada, 5 mL de metanol e 2,5 mL de clorofórmio para sofrer agitação mecânica por 1h e 30 minutos, assim formando solução homogênea. A seguir, 2,5 mL de clorofórmio e 2,5 mL de solução de sulfato de sódio (Na_2SO_4) a 1,5% foram adicionados para promover solução bifásica e sofrer agitação mecânica por 30 minutos, logo após foi centrifugada por 10 minutos a 2.000 rpm. Os lipídios presentes na fase inferior da solução foram submetidos a quantificação de gordura por método gravimétrico e análise de ácidos graxos. Para gordura, 2,5 mL da solução obtida foi colocada em cadinho e submetida a estufa por 45 minutos a 105°C, posteriormente o cadinho foi pesado para quantificação da gordura após evaporação do clorofórmio.

A metilação de ácidos graxos (AG) foi a partir de solução previamente obtida utilizando método quantitativo de Hartman e Lago (1973). Em um tubo de vidro com tampa foi adicionada 0,8 mL de solução em 1 mL de KOH 0,4 M em metanol, mantida em banho-maria a 100°C por 10 minutos e resfriado em temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado 3 mL de H_2SO_4 1 M em metanol e novamente mantidas em banho-maria a 100°C por 10 minutos. Após resfriamento, foi adicionado 2 mL de hexano, agitado por 2 minutos em vórtex e centrifugado a 2000 rpm por 10 min. Por fim, 1 μL do hexano com os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foi submetido à análise cromatográfica.

Para caracterização dos FAME, foi utilizado cromatógrafo gasoso modelo TRACE 1310 equipado com um detector de ionização de chama (Thermo

Scientific) com hidrogênio usando como gás de arraste a um fluxo constante de 1,5 mL/min. Um microlitro de amostra foi injetado em um injetor split-splitless, operado no modo split de proporção 1:10 a 250 °C.

A separação dos FAME foi usando uma coluna de cromatografia RT 2560 (100 m × 0,25 mm × 0,20 µm de filme de espessura, Restek, EUA). A temperatura inicial do forno foi programada em 100°C por 5 min e aumentada para 180 °C, a uma taxa de 8 °C/min. Em seguida, aumentando para 210°C, a uma taxa de 4°C/min, e finalmente até 240°C, aumentando 20°C/min, e mantendo por 20 min em isotérmico. A temperatura do detector foi mantida constante em 250 °C.

Os valores de ácidos graxos foram expressos em porcentagem (%) determinada pela comparação da quantidade total de ácidos graxos do padrão autêntico (MIX-37, Sigma Aldrich, St. Lois, MO). Foram calculadas as porcentagens de ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e ácidos graxos poliinsaturados (AGPI).

3.2.9 Análise estatística

O delineamento foi no modelo inteiramente casualizado onde cada baía foi considerada uma unidade experimental. Os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade de variância usando os testes Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Os resultados hemograma, quantificação de protozoários no fluido ruminal e do status oxidativo de tecidos requereram transformação para alcançar a normalidade e homogeneidade e, em seguida, foram retransformados para as unidades originais para descrição. Todos os dados foram analisados usando o SAS 'MIXED procedure' (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA; versão 9.4), com a aproximação de Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para o teste de efeitos fixos. Dados de desempenho de crescimento (exceção para PC) foram testados para efeitos de tratamento fixo usando animal (tratamento) como efeito aleatório. Pesos corporais, hemogramas e dados bioquímicos séricos foram analisados como réplicas repetidas. Todos os dados obtidos no dia 1 para cada variável foram

incluídos como covariáveis em cada análise. A estrutura de covariância autorregressiva de primeira ordem foi selecionada de acordo com o menor critério de informação de Akaike. As médias foram separadas usando o método PDIFF, que selecionou o teste t, e todos os resultados foram relatados como médias com erros padrão. Entre os tratamentos, as diferenças foram definidas quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P > 0,05$ e $\leq 0,10$.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Desempenho do confinamento

Como demonstrado nas Tabelas 2 e 3, nenhuma diferença entre os tratamentos ou interação tratamento x dia foi encontrada nas avaliações morfométricas de crescimento e desenvolvimento entre os grupos ($P \geq 0,11$). Animais de ambos os grupos foram terminados com ECC 4, considerado ótimo. A Tributirina não afetou o ganho de peso, consumo de matéria seca, conversão e eficiência alimentar dos animais, da chegada à última pesagem (dia 1 ao dia 70) ($P \geq 0,11$).

3.3.2 Perfil hematológico e bioquímica sérica

Na Tabela 4 foram apresentados resultados de variáveis hematológicas e bioquímicas. Houve efeito do tratamento na contagem de leucócitos ($P = 0,045$). Houve efeito do tratamento ($P = 0,022$) e tendência de interação tratamento x dia ($P = 0,080$) para a contagem de linfócitos; sendo maior em animais Tributirina comparado ao controle. Não foi observado efeito do tratamento e interação tratamento x dia para as contagens de monócitos, granulócitos, eritrócitos e plaquetas, assim como para concentração de hemoglobina e percentagem de hematócrito.

Houve uma tendência de efeito de tratamento para concentração sérica de glicose, sendo maior no sangue dos animais que consumiram tributirina. Nenhum efeito foi observado para tratamento e interação tratamento x dia para as demais variáveis AST, GGT, proteína total, colesterol, albumin, globulin, calcium e phosphorus.

3.3.3 Parâmetros ruminais

Resultados de biomarcadores no ambiente ruminal foi apresentado na Tabela 5. Não houve efeito do tratamento para pH. Contudo, houve efeito do tratamento para PRAMs, sendo verificado maior tempo para consumo do azul de metileno pelas bactérias, o que de forma indireta indica menor atividade

microbiana no ambiente ruminal quando cordeiros consumiram tributirina, porém sem interação tratamento x dia para PRAMs. Houve interação tratamento x dia no dia 70 ($P=0,50$) para contagem de protozoários no líquido ruminal, sendo maior o número nos cordeiros que consumiram tributirina.

Teve efeito do tratamento e interação tratamento x dia para concentrações de ácidos graxos curtos, sendo menor nos cordeiros que consumiram tributirina nos dias 35 e 70 (Tabela 5). Não verificamos efeito do tratamento para proporção dos ácidos graxos voláteis denominados de acético, propionico, butirico, valérico e isovalerico (Tabela 5 - $P >0,05$).

3.3.4 Metabolismo energético e status oxidativo

Na Tabela 6 foram apresentados os resultados da atividade de enzimas do metabolismo de energia celular e status oxidativo no fígado e intestino. Houve efeito significativo do tratamento na atividade de AK do fígado ($P=0,05$) e intestino ($P=0,01$); atividade de PK do fígado ($P=0,01$) e intestino ($P=0,05$). Ambas as enzimas (AK e PK) tiveram menor atividade no fígado e intestino dos cordeiros que consumiram a tributirina comparado ao controle. No intestino, houve efeito do tratamento para atividade da creatina quinase citosólica ($P=0,02$), sendo maior no jejuno dos cordeiros do grupo Tributirina; já a atividade da creatina quinase mitocondrial teve tendência ($P=0,08$) de ser menor no jejuno dos animais do grupo Tributirina.

Não teve efeito sobre a proteína carbonila no fígado, mas teve no intestino, isto é, a concentração desse biomarcador de oxidação proteica foi menor no jejuno dos cordeiros que consumiram tributirina (Tabela 6). Houve efeito do tratamento para atividade de glutathione S-transferase no fígado ($P=0,01$), sendo a maior atividade nos cordeiros do grupo Tributirina; porém sem alteração dessa enzima no jejuno dos animais. Não foi verificado efeito do tratamento para atividade da SOD no fígado; mas no intestino/jejuno a atividade dessa enzima foi mais elevada ($P = 0.01$) nos cordeiros que consumiram tributirina quando comparado aos animais controle. Não teve efeito de tratamento para níveis de TBARS no fígado e intestino.

3.3.5 Carcaça e qualidade da carne

Resultados de carcaças foi apresentado na Tabela 7. Nenhuma diferença entre os tratamentos foi encontrada no rendimento de carcaça e pH nas carcaças quente e fria. Entre os tratamentos, também não foram observadas diferenças entre grupos para as características de cor (luminosidade, cor vermelha e cor amarela) e composição química (proteína, gordura e matéria orgânica) da carne (Tabela 8). Contudo, a CRA foi significativamente maior na carne de animais alimentados com Tributirina (Tabela 8 - $P=0,050$).

Resultados do perfil de ácidos graxos na carne foi apresentado na Tabela 9. Houve efeito do tratamento para somatório de ácidos graxos saturados (AGS) ($P=0,046$) e ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) ($P=0,050$), sendo menor AGS e maior AGMI nos animais do grupo Tributirina. Foi verificado que na carne dos animais do grupo Tributirina uma maior proporção de ácido oleico ($P=0,041$) e ômega 3 eicosapentaenoico ($P=0,042$), além de uma tendência de maior percentagem de ácido linoléico ($P=0,074$). Combinado a isso, nesses animais que consumiram tributirina tiveram menor proporção de ácido palmítico ($P=0,001$) e um tendencia de menor percentagem de ácido palmitoleico ($P=0,091$). As demais variáveis determinados na cromatografia não diferiram entre grupos e estão presentes na Tabela 9

3.4 DISCUSSÃO

A adição de tributirina na dieta dos cordeiros obteve efeitos mais marcantes em células do sistema imune, status oxidativo e perfil de ácidos graxos na carne. Sendo assim precisamos compreender melhor os mecanismos de respostas que se mostraram acentuadas nessas variáveis. Acredita-se que ácidos graxos de cadeia curta possuem estreita relação entre dieta, metabolismo energético, microbiota rumina e intestinal e imunidade do hospedeiro. De acordo com a literatura, os ácidos graxos de cadeia curta são utilizados como energia e sinalização para as funções de desenvolvimento ruminal e função

imunomoduladora (Xu, 2021; Bedford & Gong, 2018; Guilloteau, 2010; Kasubuchi, 2015). No entanto, sua utilização na alimentação animal de ruminantes geralmente é feita na forma protegida, o que eleva os custos do aditivo, principalmente devido forte odor que limita consumo na forma livre dos ruminantes. No presente estudo quando o ácido butírico na forma de tributirina, isso não limitou o consumo de concentrado pelos cordeiros. Já em outro estudo, houve redução no consumo de alimentos por ovelhas adultas quando presente o aditivo tributirina (Ren et al. 2018). Pesquisas mostram que o efeito trófico da tributirina exógena no sistema gastrointestinal é idade dependente em ruminantes, isso porque o butirato estimula IGF-1 e IGF-2 em animais jovens para o desenvolvimento ruminal, resultando em maior superfície absorptiva no rúmem e melhor desempenho de crescimento (Sakata & Tamato 1978; Gorka et al., 2018; Hilligsøe 2018); o que não é necessário para animais adultos. Os cordeiros do presente estudo tinham 3 meses de vida quando iniciamos a pesquisa, embora já adaptados a palatabilidade do concentrado e segundo pesquisadores as diversas moléculas de butírico são mais efetivos nessa fase de início da vida dos ruminantes (Matteo et al., 2021), tendo efeitos na absorção de nutrientes, promovendo desenvolvimento animal aos primeiros meses de vida, porém esse efeito não persiste ou não se difere mais de animais controle com passar do tempo (Guilloteau et al 2010; Gorka et al., 2011; Gorka et al., 2018; Murayama 2023).

Desempenho de crescimento foi analisada nesse estudo como variáveis complementares, pois nosso n amostral foi planejado para estudar mecanismos e vias de atuação da tributirina nos cordeiros, sem diferenças entre grupos; o que é diferente da literatura. Em pré-desmame, Liu et al. (2021) e Donglin et al. (2023) ofertando sódio de butirina na dieta de bezerros e verificaram aumento no desempenho de crescimento, além disso no estudo de Donglin et al. (2023) foi observado modulações positivas na diversidade da microbiota intestinal. Por outro lado, Araujo et al. (2016) utilizando 0,03 % de tributirina ou sódio de butirina por kg de MS consumida verificaram menor peso final e GMD/CMS dos bezerros quando comparados ao controle. Cavani et al (2015) observaram aumento no peso final e rendimento de carcaça de cordeiros quando ofertaram 3,6 g de sódio

de butirina por kg de MS no período de aleitamento, mas não no período de engorda. Os mesmos autores relatam aumento da concentração plasmática de glicose em ambas as fases do estudo, sugerindo a melhora no metabolismo energético, corroborando com a nossa tendência de maiores níveis de glicose no sangue.

Pesquisadores que alimentaram cordeiros com monolaurato de glicerol, um glicerídeo de cadeia média, combinado a tributirina (3 g/kg MS) verificaram alterações no microbioma ruminal com destaque maior abundância dos filos Bacteroidetes e Verrucomicrobia, sendo o primeiro grupo de bactérias mais generalista no processo de degradação, diferente do segundo grupo que possui sistema enzimático para quebra de polissacarídeos/fibras mais complexos; além disso esses pesquisadores verificaram que esse aditivo foi capaz de aumentar a digestibilidade aparente de FDN (Li Y. et al., 2022). Li Z. et al. (2023) observaram aumento da abundância relativa dos filos Firmicutes, Bacteroidetes e Fibrobacteres em cordeiros que consumiram tributirina. Em nosso estudo não avaliamos microbiota e nem digestibilidade, mas sim a atividade bacteriana ruminal que foi menor no líquido ruminal dos cordeiros que consumiram tributirina, o que pode indicar efeitos antimicrobiano do glicerídeo, propriedade biológica já bem conhecida. Essa menor atividade bacteriana pode ter relação direta com os menores níveis de ácidos graxos voláteis no rúmen desses cordeiros, porém é apenas uma hipótese, que precisa ser pesquisada em estudos futuros.

Em ovelhas adultas e in vitro, pesquisadores observaram maior atividade de enzimas fibrolíticas (kilase e carboximetil celulase), assim como maior concentração de AGV totais e menor pH ruminal na presença de tributirina (Ren et al. 2018). Uma classe de moléculas que atua como elo entre a microbiota e o sistema imunológico são os AGV, inclusive, possuem papel ativo nas reações inatas dos bovinos (Correa et al., 2016; Carreta et al., 2016). O butirato requer a mobilização de Ca^{2+} com determinada concentração no plasma para produção de citocinas (Carreta et al., 2016). No entanto, no presente estudo não houve alterações nos níveis séricos de Ca^{2+} neste trabalho, portanto, nos momentos avaliados essa relação não foi observada. Porém, houve alterações em

biomarcadores de resposta imunológica. De acordo com a literatura, o estímulo que a tributirina causa no animal é capaz de alterar a função imune dos cordeiros em especial ácidos graxos livres de butirato que são receptados por proteínas G/ GPCR (FFA2 E FFA3) através da extensão do tecido gastrointestinal, atuando na expressão de células imunocompetentes, como neutrófilos, e na mobilização de Ca^{+2} em órgãos como fígado, intestino delgado (duodeno) e rúmen são alguns dos mecanismos conhecidos (Alarcon et al. 2018; Wang et al., 2021). Esses efeitos diferenciais sobre as funções das células imunes em vários momentos podem ser explicados por dois mecanismos independentes (Wang et al., 2021; Carretta et al., 2013): a) ativação dos receptores de ácidos graxos livres, FFAR2 e FFAR3 (Li et al., 2018); e b) inibição da histona desacetilase (HDAC) (Chang et al., 2014). Os AGCC são agonistas principalmente das FFA2 e recepta ácidos graxos livres com uma ordem de acordo com o comprimento da cadeia ($C4 > C3 > C2$), pois o comprimento da cadeia de carbono é fundamental na interação de ácidos graxos e triglicerídeos com células do sistema imunológico (Wanten et al., 2002). Por outro lado, o mecanismo na modulação das respostas imunitárias do butirato está relacionando a inibição HDAC que ocorre em macrófagos; e merece ser investigado em estudo futuros para tRibutirina.

Em ambos tecidos (fígado e intestino) observamos efeitos sobre o status oxidativo, associados a alteração na atividade de enzimas do metabolismo de ATP, isto é, piruvato quinase (AK), adenilato quinase (PK) e creatina quinase (CK). De acordo com a literatura, em condições similares ao presente estudo, quando ocorre o aumento da atividade CK citosólica (CK-C) e consumo de ATP fisiológico adequado, simultaneamente com atividade de CK mitocondrial (CK-M) reduzida configura um desequilíbrio na compensação energética (Baldissera et al., 2017); porém não acreditamos que esse seja o mecanismo, visto que é conhecido os benefícios do ácido butírico para as células intestinais, enterócitos e colonócitos (Ziegler et al., 2016). Sendo assim, nossa principal hipótese é que o efeito inversamente proporcional da CK em diferentes isoformas pode contribuir para uma comunicação energética intracelular eficiente para manter o equilíbrio entre o consumo e a produção celular de ATP na tentativa de preservar a homeostase energética, chamado mecanismo de feedback (Baldissera et al.,

2017). Portanto, existe uma participação da tributirina no metabolismo energético a nível de jejuno, único fragmente usado a nossa pesquisa; e portanto, não podemos descartar efeitos similares em outros segmentos do trato gastrointestinal.

Analisando o status oxidativo intestinal e hepático verifica-se um efeito antioxidante proporcionado pela ingestão de tributirina. Outros estudos já mencionavam em suas pesquisas uma ativação da atividade de enzimas antioxidantes combinada redução de reações de oxidação; porém os mecanismos envolvidos não são claro; porém acreditamos que está relacionado a melhora da saúde animal de modo geral, principalmente pelo efeito anti-inflamatório proporcionado pelos glicerídeos de ácido butírico. Pesquisadores forneceram butirato de sódio via leite para bezerros e verificaram que a atividade sérica da glutathione peroxidase aumentou linearmente com o aumento dos níveis de butirato de sódio, enquanto a concentração sérica de dialdeído maleico diminuiu linearmente (Liu et al., 2021). Os pesquisadores também avaliaram a atividade da CAT e SOD, porém sem efeito do tratamento para ambas (Liu et al., 2021), diferente de nosso estudo, onde a atividade da SOD intestinal foi maior associada a uma menor oxidação proteica nesse órgão; além disso, na nossa pesquisa observamos maior atividade da GST no fígado; enzima antioxidante de atuação hepática, importante no processo de desintoxicação do órgão (Allocati et al., 2018).

Quanto as carcaças, verificamos que nossos achados se alinham com os de Watanabe et al. (2021) que ao avaliarem diferentes doses de tributirina protegida ou não protegida fornecida via alimentação para cordeiros, isto é, sem efeitos sobre rendimento de carcaça quente e rendimento de carcaça final. No entanto, no presente estudo carcaças de animais alimentados com tributirina sofreram menos perdas no resfriamento; o que é um resultado excelente e pode ter relação direta a resposta antioxidante da tributirina, que leva a uma proteção das células. Porém, isso também pode ser um efeito negativo se pensarmos que ter perdido menos água pode dificultar a redução adequada de pH, o que é necessário para transformação e maturação do músculo. Assim como outras variáveis, a coloração, composição química e perfil de ácidos graxos de cordeiro

podem ser influenciados pela nutrição e sistema de produção (Serra et al., 2016; Manso et al., 2016; Alshamiry et al., 2023), sendo assim muitos nutricionistas têm usado esse conhecimento, a fim de produzir alimentos diferenciados e mais saudáveis, como discutido a seguir.

No presente trabalho, os ácidos graxos eicosapentaenóico (ômega n3) e linoleico (ômega C18:2n-6) estavam em maior proporção na carne dos cordeiros que consumiram a tributirina; e quando somados a outros insaturados, resultados em uma carne com maior proporção de MUFA, enquanto os níveis de SFA foram menores; tornando essa carne mais sensível as oxidações; mas principalmente pode ser um alimento mais saudável para humanos. Pois de acordo com a literatura, vários fatores de risco para doenças cardiovasculares são modificados de forma benéfica pelo aumento da ingestão de AGPi, estes incluem: pressão arterial, reatividade plaquetária e trombose, concentrações plasmáticas de triacilgliceróis, função vascular, arritmias cardíacas, variabilidade da frequência cardíaca e inflamação (Calder, 2014; Ponnampalam et al., 2021). Como os resultados de perfil de ácidos graxos voláteis foi discreto no líquido ruminal, combinado a ausência de efeito do tratamento em biomarcadores séricos de metabolismo lipídico; não conseguimos conhecer o mecanismo envolvido nas mudanças do perfil de ácidos graxos na carne dos cordeiros que consumiram tributirina.

3.5 CONCLUSÃO

A ingestão de 2 gramas de tributirina/dia pelos cordeiros não alterou variáveis de desempenho de crescimento, mas mudou a atividade/concentração de marcadores sanguíneos, de ambiente ruminal e de carne. Entre as principais conclusões destacamos a atividade antioxidante intestinal e hepática, associada regulação de ATP no processo de fosforilação. Além disso, o consumo de tributirina aumenta a proporção de ácidos graxos insaturados na carne e reduz de ácidos graxos saturados

3.6 TABELAS E FIGURAS

Tabela 2 - Desempenho zootécnico de cordeiros alimentados com Tributirina

Itens	Tratamentos		EPM	P-valor
	Controle	Tributirina		
	Ganho de peso (kg)			
Período de adaptação (10 dias)	21,1	19,8	0,44	0,35
D1	25,1	23,8	0,40	0,52
D15	29,7	27,7	0,39	0,46
D35	34,8	33,2	0,40	0,78
D53	40,6	37,9	0,52	0,50
D70	47,0	44,2	0,53	0,39
Dia 1 ao 70 (período experimental)	21,9	20,4	0,30	0,47
Ganho médio diário (GMD), kg/day	0,312	0,291	0,09	0,38
Consumo de matéria seca (CMS), kg/dia	1,39	1,38	0,15	0,93
Conversão alimentar (DMI/ADG), kg/kg	4,45	4,77	0,26	0,80
Eficiência alimentar (ADG/DMI), kg/kg	0,22	0,21	0,01	0,92

Tabela 3 - Morfometria in-vivo e condição corporal de cordeiros alimentados com Tributirina ao concentrado

Variáveis	Tratamentos		EPM	P-valor
	Controle	Tributirina		
Condição corporal				
Dia 1	3,16	3,25	0,09	0,29
Dia 15	3,08	3,16	0,07	0,54
Dia 35	3,75	3,66	0,07	0,65
Dia 53	3,91	3,91	0,07	0,98
Dia 70	4,33	4,16	0,08	0,67
Comprimento				
Dia 1	60,0	58,6	0,54	0,47
Dia 15	62,5	62,1	0,62	0,89
Dia 35	68,3	65,6	0,71	0,35
Dia 53	68,3	67,1	0,64	0,83
Dia 70	70,5	68,8	0,76	0,70
Membro anterior				
Dia 1	61,6	60,2	0,39	0,78
Dia 15	67,0	65,1	0,37	0,66
Dia 35	68,5	68,5	0,4	0,92
Dia 53	73,1	73,1	0,42	0,64
Dia 70	74,3	74,3	0,40	0,55
Membro posterior				
Dia 1	56,0	53,3	0,51	0,48
Dia 15	57,1	58,5	0,45	0,86
Dia 35	58,1	60,3	0,52	0,77
Dia 53	61,6	62,6	0,50	0,90
Dia 70	65,3	64,6	0,54	0,88

Circunferência torácica	Controle	Tributirina	EPM	<i>P</i> -valor
Dia 1	71,1	69,3	0,68	0,48
Dia 15	73,0	73,0	0,68	0,86
Dia 35	77,5	80,3	0,69	0,77
Dia 53	81,8	82,3	0,69	0,90
Dia 70	85,1	84,5	0,70	0,88

^{a-b} Dentro das linhas, subscritos incomuns diferem ($P \leq 0.05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0.10$).

Tabela 4 - Bioquímica sérica e hemograma de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado.

Variáveis ¹	Tratamentos			P-valor	
	Controle	Tributirina	EPM		
Bioquímica sérica				Trat.	Trat. x Dia
AST (U/L)	95,59	94,02	2,659	0,930	0,912
GGT (U/L)	64,97	65,13	2,347	0,898	0,941
Prot. Total (g/dL)	6,48	6,55	0,088	0,923	0,881
Colesterol (mg/dL)	79,24	78,72	2,505	0,906	0,784
Glicose (mg/dL)	93,97	99,40	2,065	0,241	0,147
Albumina (g/dL)	3,36	3,35	0,056	0,953	0,932
Globulina (g/dL)	3,11	3,20	0,104	0,947	0,956
Cálcio (mg/dL)	11,31	11,42	0,228	0,970	0,970
Fósforo (mg/dL)	10,60	10,58	0,303	0,962	0,947
Hemograma (µ/L)					
Leucócitos	7,470 ^b	10,33 ^a	0,951	0,045	0,105
Linfócitos	5,380 ^b	7,727 ^a	0,316	0,022	0,080
Monócitos	0,621	0,901	0,242	0,180	0,207
Granulócitos	1,469	1,706	0,155	0,274	0,398
Eritrócitos	10,10	10,42	0,166	0,965	0,981
Hemoglobina (g/dL)	12,44	12,61	0,240	0,950	0,963
Hematócrito	27,83	27,54	0,240	0,951	0,968
Plaquetas	282,8	239,9	20,80	0,694	0,725

^{a-b}Dentro das linhas, subscritos incomuns diferem ($P \leq 0.05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0.10$).

¹AST (aspartate amino-transferase), GGT (gamma-glutamyl-transferase).

Tabela 5 - Parâmetros ruminiais de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado.

Variáveis ¹	Tratamentos		EPM	P-valor	
	Controle	Tributirina		Tratamento	Trat x Dia
pH fluído ruminal	6,243	6,403	0,03	0,920	0,950
PRAM(s) ¹	92,05 ^b	118,5 ^a	6,21	0,031	0,128
Protozoários (n ^o /L)				0,253	0,050
D1	131,7	133,5	9,66		
D35	100,2	136,4	9,57		
D70	110,7 ^b	131,4 ^a	4,26		
AGCC (mnol/L)				0,02	0,01
D1	83.4	83.8	0.36		
D35	74.1 ^a	62.8 ^b	0.34		
D70	90.5 ^a	85.1 ^b	0.33		
Ácido acético (%)	59.2	59.4	0.81	0.95	0.97
Ácido propionico (%)	28.4	27.7	0.34	0.96	0.92
Ácido butirico (%)	8.49	8.69	0.12	0.93	0.95
Ácido isovalerico (%)	1.59	1.69	0.03	0.82	0.76
Ácido valérico (%)	2.23	2.42	0.06	0.88	0.71
Acetico/Propionico	2.24	2.23	0.05	0.97	0.95

¹PRAM (prova de redução de azul de metileno).

^{a-b}Dentro das linhas, subscritos incomuns diferem ($P \leq 0.05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0.10$)

Tabela 6 - Metabolismo energético e status oxidativo do fígado e intestino de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado

Variáveis ¹	Tratamentos			<i>P</i> -valor
	Controle	Tributirina	EPM	
Fígado				
Adenilato quinase (AK)	9,98	7,95	0,29	0,05
Piruvato quinase (PK)	0,56	0,47	0,01	0,01
TBARS	1,85	1,82	0,24	0,92
Proteína carbonila	3,68	3,47	0,63	0,73
GST (U/L)	152	274	5,89	0,01
Superóxido dismutase	12,8	14,6	0,95	0,56
Jejuno				
Adenilato quinase (AK)	9,29	6,35	0,42	0,01
Piruvato quinase (PK)	0,86	0,59	0,06	0,05
(CK-C)	1,85	2,50	0,07	0,02
(CK-M)	3,92	3,38	0,07	0,08
TBARS	2,64	2,25	0,13	0,43
Proteína carbonila	4,58	3,27	0,15	0,02
GST (U/L)	46,3	51,2	2,84	0,55
Superóxido dismutase	8,56	11,7	0,89	0,01

¹Creatina quinase citosólica (CK-C), Creatina quinase mitocondrial (CK-M), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), glutatona s-transferase (GST).

^{a-b}Dentro das linhas, subscritos incomuns diferem ($P \leq 0.05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0.10$)

Tabela 7- Parâmetros da carcaça de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado

Variáveis ¹	Tratamento			P-valor
	Controle	Tributirina	EPM	
PCQ (% , kg)	49,2	47,5	0,095	0,147
PCF (% , kg)	45,6	44,3	0,102	0,385
pH carcaça quente	6,88	6,86	0,090	0,951
pH carcaça fria	6,21	6,47	0,314	0,804

¹PCQ (peso da carcaça quente), PCF (peso da carcaça fria).

^{a-b}Dentro das linhas, subscritos incomuns diferem ($P \leq 0.05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0.10$).

Tabela 8 - Qualidade da carne de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado.

Variáveis ¹	Tratamento		EPM	P-valor
	Controle	Tributirina		
CRA (%)	84,8 ^b	87,7 ^a	1,562	0,050
Cor				
Luminosidade (L)	35,9	34,3	0,548	0,625
Cor vermelha (a)	10,8	9,35	0,420	0,502
Cor amarela (b)	9,72	8,42	0,340	0,752
Composição química (%)				
Umidade	71,9	72,4	0,952	0,909
Proteína total	22,2	21,6	0,812	0,892
Gordura total	2,61	2,62	0,625	0,974

¹CRA (capacidade de retenção de água).

^{a-b}Dentro das linhas subscritos incomuns diferem ($P \leq 0.05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0.10$).

Tabela 9 - Perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros alimentados com Tributirina misturado ao concentrado.

Váriáveis	Tratamento ²		EPM	P-valor
	Controle	Tributirina		
Ácidos graxos (%)				
C10:0 (Cáprico)	0,068	0,065	0,003	0,951
C12:0 (Láurico)	0,080	0,083	0,003	0,957
C14:0 (Mirístico)	1,937	1,766	0,067	0,428
C14:1 (Miristoleico)	0,088	0,093	0,018	0,921
C15:0 (Pentadecanoico)	0,305	0,317	0,033	0,938
C16:0 (Palmítico)	26,115 ^a	23,902 ^b	0,306	0,001
C16:1 (Palmitoleico)	1,948 ^a	1,605 ^b	0,061	0,091
C17:0 (Heptadecanóico)	1,175	1,076	0,045	0,820
C18:0 (Estearico)	15,325	15,718	0,146	0,967
C18:1n9t (Elaidico)	1,381	1,393	0,091	0,983
C18:1n9c (Oléico)	43,18 ^b	45,02 ^a	0,350	0,041
C18:2n6c (Linoléico)	4,774 ^b	5,201 ^a	0,177	0,074
C20:0 (Araquidico)	0,132	0,115	0,003	0,873
C18:3n6 (?-Linolênico)	0,074	0,069	0,003	0,882
C20:1n9 (cis-11-Eicosenóico)	0,100	0,113	0,002	0,904
C18:3n3 (α-Linolênico)	0,176	0,198	0,008	0,913
C21:0 (Henicosanóico)	0,300	0,279	0,012	0,856
C20:2 (cis-11,14-Eicosadienóico)	0,043	0,048	0,002	0,899
C22:0 (Behenico)	0,026	0,031	0,002	0,621
C20:3n6 (cis-8,11,14-Eicosatrienóico)	0,155	0,166	0,009	0,795
C20:4n6 (Ariquidônico)	2,459	2,566	0,122	0,823
C24:0 (Lignocerico)	0,027	0,030	0,002	0,941
C20:5n3 (cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenóico)	0,059 ^b	0,072 ^a	0,004	0,042

C24:1n9 (Nervônico)	0,024	0,024	0,002	0,981
C22:6n3 (cis-4,7,10,13,16,1 Docosaheptaenóico)	0,042	0,042	0,003	0,978
Somatório (%) ¹				
AGS	45,49 ^a	43,38 ^b	0,333	0,046
AGMI	46,72 ^b	48,25 ^a	0,335	0,050
AGPI	7,782	8,363	0,332	0,510

¹AGS (ácidos graxos saturados), AGMI (ácidos graxos monoinsaturados), AGPI (ácidos graxos poli-insaturados).

^{a-b}Dentro das linhas, subscritos incomuns diferem ($P \leq 0.05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0.10$).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Cordeiros Lacaune confinados não demonstraram tendência de aumento no ganho de peso e ganho médio diário quando alimentados com Tributirina. O aditivo foi capaz de aumentar significativamente a concentração de leucócitos e linfócitos, assim como mecanismos enzimáticos de fase aguda, contribuindo de forma negativa para o sistema imune e estado de saúde dos animais. Obteve-se uma diminuição na atividade bacteriana ruminal, embora, esta informação do estudo ainda está em análise para melhor compreensão da produção de AGCC do ambiente ruminal. Ainda, houve desequilíbrio na compensação energética.

O tratamento com Tributirina demonstrou aumento significativo na atividade GST no fígado corroborando com alta presença de ERO e, radicais livres e por consequência disso, aumentou-se a ativação de sistemas enzimáticos com eleva demanda energética, possivelmente indiciando sobrecarga ou redução na funcionalidade hepática.

Quanto a aspectos ao rendimento e qualidade de carne, a carne foi comercializada respeitando média de rendimento aceita no mercado e foi qualificada para consumo.

Em relação aos ácidos graxos na carne, a Tributirina apresentou influência no perfil dos ácidos, embora necessitamos do perfil de ácidos das rações basais e compreender a transformação destes para a composição muscular. Aumentou-se a concentração de alguns ácidos graxos poliinsaturados e monoinsaturados totais. Tendo em vista a busca para melhora aspectos saudáveis nos alimentos de origem animal, a carne é indicada ao consumo evitando fatores de risco para doenças em humanos.

Talvez o “n” amostral tenha sido um percalço para avaliação dos ganhos zootécnicos, por isso esse dado se torna complementar perante os parâmetros metabólicos decisivos/ destacados no trabalho. Com isso, podemos supor que a Tributirina exerce seus efeitos no sistema imune, principalmente através da expressão de um estado inflamatório agudo pelo aumento na produção de leucócitos que são o tipo células requeridas para defesa em situações

necessárias ao organismo juntamente com presença de desequilíbrio energético para gasto no metabolismo antioxidante.

Estes aspectos imunológicos, requerem investigações para eliminar ainda mais efeitos externos, além de aumentar o número “n” amostral, deve-se mapear a origem das células imunes, citocinas inflamatórias e o mecanismo da oxidação, em especial óxido nítrico quando cordeiros forem alimentados com Tributirina.

REFERÊNCIAS

- ABD ELLATIF, Z.; SAAD, S.; HASSANIN, F.; SALEM, A. *et al.* Efficiency of some organic acids as decontaminants in sheep carcasses. **Benha Veterinary Medical Journal**, 38, n. 2, p. 116-119, 2020.
- ALARCON, P.; MANOSALVA, C.; CARRETTA, M. D.; HIDALGO, A. I. *et al.* Fatty and hydroxycarboxylic acid receptors: The missing link of immune response and metabolism in cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 201, p. 77-87, 2018.
- ALSHAMIRY, F. A.; ALHARTHI, A. S.; AL-BAADANI, H. H.; ALJUMAAH, R. S. *et al.* Growth Rates, Carcass Traits, Meat Yield, and Fatty Acid Composition in Growing Lambs under Different Feeding Regimes. **Life**, v.13, n. 2, DOI: 10.3390/life13020409.
- ALVES, D. D.; DE ARAÚJO, L. M.; DE FREITAS MONTEIRO, H. C.; DE PAULA LEONEL, F. *et al.* Características de carcaça, componentes não-carcaça e morfometria em ovinos submetidos a diferentes estratégias de suplementação. **Semina: Ciências Agrárias**, 34, n. 6, p. 3093-3104, 2013.
- ALVES, L. G. C.; FERNANDES, A. R. M.; JUNIOR, F. M. V.; CUNHA, C. M. D. *et al.* Composição e qualidade da carcaça de ovinos com diferentes pesos corporais ao abate. **Boletim De Indústria Animal**, 77, p. 1-14, 2020.
- AOAC. 1997. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**: edited Ig W. Horwitz 16^a ed. Washington, v.2, 850p
- ARAUJO, G.; TERRE, M.; MEREU, A.; IPHARRAGUERR, I. R. *et al.* Effects of supplementing a milk replacer with sodium butyrate or tributyrin on performance and metabolism of Holstein calves. **Animal Production Science**, 56, n. 11, p. 1834-1841, 2016.
- BALDISSERA, M. D.; SOUZA, C. F.; JÚNIOR, G. B.; VERDI, C. M. *et al.* Aeromonas caviae altera as atividades da creatina quinase citosólica e mitocondrial em bagres prateados infectados experimentalmente: Prejuízo na bioenergética renal. **Patogênese microbiana**, 110, p. 439-443, 2017.
- BATISTA, R.; BIANCHI, A. E.; DE PAULO MACEDO, V.; ZORTEA, T. *et al.* Níveis proteicos na dieta de cordeiros Lacaune confinados na fase de terminação. **Synergismus scyentifica UTFPR**, 11, n. 1, p. 9-12, 2016.

BEDFORD, A.; GONG, J. Implications of butyrate and its derivatives for gut health and animal production. **Animal Nutrition**, 4, n. 2, p. 151-159, 2018.

BEEGLE, D. B.; CARTON, O. T.; BAILEY, J. S. Nutrient Management Planning: Justification, Theory, Practice. **Journal of Environmental Quality**, 29, n. 1, p. 72-79, 2000.

BERNARDES, G. M. C.; CARVALHO, S.; PIRES, C. C.; MOTTA, J. H. *et al.* Consumo, desempenho e análise econômica da alimentação de cordeiros terminados em confinamento com o uso de dietas de alto grão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 67, n. 6, p. 1684-1692, 2015.

BETTENCOURT, A. F.; SILVA, D. G.; LEITE, T. E.; PORCIUNCULA, G. C. Sistemas de produção para terminação de cordeiros no Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, 26, n. 1, p. 243-262, 2020.

BLIGHT, E. G.; DYER, W. J. Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. **Can J Biochem Physiol**, 37(8), p. 911-917, 1959.

CALDER, P. C. Very long chain omega-3 (n-3) fatty acids and human health. **European journal of lipid science and technology**, 116, n. 10, p. 1280-1300, 2014.

CARRETTA, M. D.; HIDALGO, A. I.; BURGOS, J.; OPAZO, L. *et al.* Butyric acid stimulates bovine neutrophil functions and potentiates the effect of platelet activating factor. **Veterinary immunology and immunopathology**, 176, p. 18-27, 2016.

CARRO, M. D.; UNGERFELD, E. M. Utilization of Organic Acids to Manipulate Ruminal Fermentation and Improve Ruminant Productivity. *In*: PUNIYA, A. K.; SINGH, R., *et al* (Ed.). **Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution**. New Delhi: Springer India, 2015. p. 177-197.

CAVINI, S.; IRAIRA, S.; SIURANA, A.; FOSKOLOS, A. *et al.* Effect of sodium butyrate administered in the concentrate on rumen development and productive performance of lambs in intensive production system during the suckling and the fattening periods. **Small Ruminant Research**, 123, n. 2-3, p. 212-217, 2015.

CORREA, R. O.; FACHI, J. L.; VIEIRA, A.; SATO, F. T. *et al.* Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. **Clinical & Translational Immunology**, 5, 2016.

DA SILVEIRA OSÓRIO, J. C. **Métodos para avaliação da produção de carne ovina: "In Vivo" na carcaça e na carne.** UFPEL, 1998.

Debortoli, E. C. Análise econômica e organizacional de sistemas de produção de ovinos para carne no estado do Paraná. 2017. **Tese** (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2017

DEN BESTEN, G.; VAN EUNEN, K.; GROEN, A. K.; VENEMA, K. *et al.* The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **Journal of Lipid Research**, 54, n. 9, p. 2325-2340, 2013.

DIRKSEN, G.; BREITNER, W. A New Quick-Test for Semiquantitative Determination of Beta-Hydroxybutyric Acid in Bovine Milk. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, 40, n. 1-10, p. 779-784, 1993.

DONOVAN, J. D.; CADWALLADER, K. R.; LEE, Y. Volatile Retention and Morphological Properties of Microencapsulated Tributyrin Varied by Wall Material and Drying Method. **Journal of Food Science**, 81, n. 3, p. E643-E650, 2016.

DRACKLEY, J. K.; ZHANG, Y.; AMARAL, D. M.; YOUNG, J. W. Metabolic Effects of Intraruminal Administration of 1,3-Butanediol or Tributyrin in Lactating Goats1. **Journal of Dairy Science**, 72, n. 8, p. 1986-1995, 1989.

FAO. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. Estatísticas FAO, 2021

GALLO, S. B.; BROCHADO, T.; ARIBONI BRANDI, R.; DA SILVA BUENO, I. C. *et al.* Implications of low fiber levels in finishing lambs on performance, health, rumen, and carcass parameters. **Tropical Animal Health and Production**, 51, n. 4, 2019.

GIACOMINI, P. V.; BRAGA, F. S. C.; ARAUJO, R.; CRUZ-POLYCARPO, V. C. *et al.* Meta-Analysis of Butyric Acid: a Performance-Enhancing Additive to Replace Antibiotics for Broiler Chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, 24, n. 3, 2022/8// 2022.

GUILLOTEAU, P.; MARTIN, L.; EECKHAUT, V.; DUCATELLE, R. *et al.* From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. **Nutrition Research Reviews**, 23, n. 2, p. 366-384, 2010/12// 2010.

GUO, W. J.; LIU, J. X.; YANG, Y. X.; MA, H. *et al.* Rumen-bypassed tributyrin alleviates heat stress by reducing the inflammatory responses of immune cells. **Poultry Science**, 100, n. 1, p. 348-356, 2021.

GÓRKA, P.; KOWALSKI, Z. M.; PIETRZAK, P.; KOTUNIA, A. *et al.* Effect of method of delivery of sodium butyrate on rumen development in newborn calves. **Journal of Dairy Science**, 94, n. 11, p. 5578-5588, 2011.

GÓRKA, P.; KOWALSKI, Z. M.; ZABIELSKI, R.; GUILLOTEAU, P. Invited review: Use of butyrate to promote gastrointestinal tract development in calves. **Journal of Dairy Science**, 101, n. 6, p. 4785-4800, 2018/6// 2018.

HE, Z.; LIU, N.; CAI, Y.; YANG, N. *et al.* Effect of Tributyrin on Growth Performance and Pathway by which Tributyrin Regulates Oligopeptide Transporter 1 in Juvenile Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*). **Animals**, 12, n. 19, p. 2498-2498, 2022.

HONIKEL, K. O. Water-holding capacity of meat. *In: Muscle development of livestock animals: Physiology, genetics and meat quality*: CABI Publishing Wallingford UK, 2004. p. 389-400.

KOVANDA, L.; ZHANG, W.; WEI, X. H.; LUO, J. *et al.* In Vitro Antimicrobial Activities of Organic Acids and Their Derivatives on Several Species of Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. **MOLECULES**, 24, n. 20, 2019.

IBGE. Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. Rio de Janeiro: IBGE, 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>. Acesso em: 30 jul. 2021.

KOWALSKI, Z. M.; GÓRKA, P.; FLAGA, J.; BARTECZKO, A. *et al.* Effect of microencapsulated sodium butyrate in the close-up diet on performance of dairy cows in the early lactation period. **Journal of Dairy Science**, 98, n. 5, p. 3284-3291, 2015.

LI, R. W.; WU, S. T.; BALDWIN, R. L.; LI, W. Z. *et al.* Perturbation Dynamics of the Rumen Microbiota in Response to Exogenous Butyrate. **PLOS ONE**, 7, n. 1, 2012.

LI, Y.; WANG, H.; ZHANG, Y.; LI, X. *et al.* Effects of Dietary Supplementation with Glycerol Monolaurate (GML) or the Combination of GML and Tributyrin on Growth Performance and Rumen Microbiome of Weaned Lambs. **Animals**, 12, n. 10, p. 1309-1309, 2022.

- LIANG, H.; JI, K.; GE, X.; XI, B. *et al.* Tributyrin Plays an Important Role in Regulating the Growth and Health Status of Juvenile Blunt Snout Bream (*Megalobrama amblycephala*), as Evidenced by Pathological Examination. **Frontiers in Immunology**, 12, 2021.
- LIMA, N. L. L.; RIBEIRO, C. R. D. F.; SÁ, H. C. M. D.; LEOPOLDINO-JÚNIOR, I. *et al.* Economic analysis, performance, and feed efficiency in feedlot lambs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 46, n. 10, p. 821-829, 2017.
- LIU, S.; WU, J.; WU, Z.; ALUGONGO, G. M. *et al.* Tributyrin administration improves intestinal development and health in pre-weaned dairy calves fed milk replacer. **Animal Nutrition**, 10, p. 399-411, 2022.
- MACIEL, R. G.; BECKER, C.; NESKE, M. Z. Markets of sheep farming in family livestock: Analytical propositions of the New Economic Sociology | Os mercados da ovinocultura na pecuária familiar: Proposições analíticas da Nova Sociologia Econômica. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, 57, n. 3, 2019.
- MANSO, T.; GALLARDO, B.; GUERRA-RIVAS, C. Modifying milk and meat fat quality through feed changes. **Small Ruminant Research**, 142, p. 31-37, 2016.
- MASMEIJER, C.; ROGGE, T.; VAN LEENEN, K.; DE CREMER, L. *et al.* Effects of glycerol-esters of saturated short- and medium chain fatty acids on immune, health and growth variables in veal calves. **Preventive veterinary medicine**, 178, p. 104983-104983, 2020.
- MATTEO, D. A.; CAPRARULO, V.; SERENA, R.; CALLEGARI, M. L. *et al.* Tributyrin as feed supplement for young animals. *In: Italian Journal of Animal Science*, 2021; volume 20, supplement S1., 2021.
- MURAYAMA, K.; FUKUI, T.; KUSHIBIKI, S.; SAKAMOTO, K. *et al.* Effects of medium-chain fatty acids and tributyrin supplementation in milk replacers on growth performance, blood metabolites, and hormone concentrations in Holstein dairy calves. **Journal of Dairy Science**, 106, n. 7, p. 4599-4607, 2023.
- MURRAY, R. L.; ZHANG, W.; IWANIUK, M.; GRILLI, E. *et al.* Dietary tributyrin, an HDAC inhibitor, promotes muscle growth through enhanced terminal differentiation of satellite cells. **Physiological Reports**, 6, n. 10, p. e13706-e13706, 2018.
- OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; OLIVEIRA, N. M.; SIEWERDT, L. Qualidade, morfologia e avaliação de carcaças. Pelotas. **Editora e Gráfica da Universidade Federal de Pelotas**, p. 195-195, 2002.

PALMA, M.; MAGNONI, L. J.; MORAIS, S.; VIEGAS, I. Tributyrin supplementation in fish and crustacean nutrition: A review. **Reviews in Aquaculture**, n/a, n. n/a, 2022.

PAULINO, P. V. R.; OLIVEIRA, T. S.; GIONBELI, M. P.; GALLO, S. B. Dietas sem forragem para terminação de animais ruminantes. **Revista Científica de Produção Animal**, 15, n. 2, p. 161-172, 2013.

POLI, C. H. E. C.; MONTEIRO, A. L. G.; BARROS, C. S. D.; MORAES, A. D. *et al.* Produção de ovinos de corte em quatro sistemas de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 37, n. 4, p. 666-673, 2008.

PONNAMPALAM, E. N.; SINCLAIR, A. J.; HOLMAN, B. W. B. The Sources, Synthesis and Biological Actions of Omega-3 and Omega-6 Fatty Acids in Red Meat: An Overview. **Foods**, v.10, n. 6, DOI: 10.3390/foods10061358.

RAMOS, M. J.; ROCHA JUNIOR, W. F.; SCHMIDT, C. M.; FAGUNDES, M. B. B. Sistema agroindustrial da carne ovina no Oeste paranaense. *Revista de Política Agrícola*. 2014.

REN, Q. C.; XUAN, J. J.; WANG, L. K.; ZHAN, Q. W. *et al.* Effects of tributyrin supplementation on ruminal microbial protein yield, fermentation characteristics and nutrients degradability in adult Small Tail ewes. **Animal Science Journal**, 89, n. 9, p. 1271-1279, 2018.

SACCOL, A. G. F.; PIRES, C. C.; KLINGER, A. C. K.; PÖTTER, L. *et al.* Termination of lambs fed concentrate or pasture: performance and technical feasibility. **Semina: Ciências Agrárias**, 41, n. 2, p. 633-646, 2020.

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

SCHULTHESS, J.; PANDEY, S.; CAPITANI, M.; RUE-ALBRECHT, K. C. *et al.* The Short Chain Fatty Acid Butyrate Imprints an Antimicrobial Program in Macrophages. **Immunity**, 50, n. 2, p. 432, 2019.

SOTIRA, S.; DELL'ANNO, M.; CAPRARULO, V.; HEJNA, M. *et al.* Effects of Tributyrin Supplementation on Growth Performance, Insulin, Blood Metabolites and Gut Microbiota in Weaned Piglets. **Animals**, 10, n. 4, p. 726-726, 2020.

THORMAR, H.; HILMARSSON, H.; BERGSSON, G. Stable concentrated emulsions of the 1-monoglyceride of capric acid (monocaprin) with microbicidal activities against the food-borne bacteria *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, 72, n. 1, p. 522-526, 2006.

WANTEN, G. J. A.; JANSSEN, F. P.; NABER, A. H. J. Saturated triglycerides and fatty acids activate neutrophils depending on carbon chain-length. **European Journal Of Clinical Investigation**, 32, n. 4, p. 285-289, 2002.

WATANABE, D. H.; GORKA, P.; SANTIN, E.; LECLERC, H. *et al.* Evaluating different doses of rumen-protected or nonprotected tributyrin on performance of feedlot lambs fed a moderate or low-forage diet. **Journal Of Animal Science**, 99, p. 464-464, 2021.

ANEXO A – COMPROVANTE DO CEUA



Universidade do Estado de Santa Catarina
Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "USO DO ADITIVO TRIBUTIRINA NA DIETA DE OVINOS: IMPACTOS SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E ACABAMENTO DE CARCAÇA", protocolada sob o CEUA nº 4684121222 (ID 001663), sob a responsabilidade de **Julcemar Dias Kessler** - 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 - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 22/12/2022.

We certify that the proposal "USE OF TRIBUTIRIN ADDITION IN SHEEP DIET: IMPACTS ON PERFORMANCE AND CARCASS", utilizing 36 Ovínes (36 males), protocol number CEUA 4684121222 (ID 001663), under the responsibility of **Julcemar Dias Kessler** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 12/22/2022.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 03/2023 a 07/2023 – Área: Zootecnia

Origem: Animais de proprietários

Espécie: Ovinos

sexo: Machos

idade: 45 a 50 dias

N: 36

Linhagem: Lacaune

Peso: 20 a 23 kg

Lages, 30 de março de 2023

José Cristani



José Cristani
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade do Estado de Santa Catarina

Pedro Volkmer de Castilhos
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade do Estado de Santa Catarina

