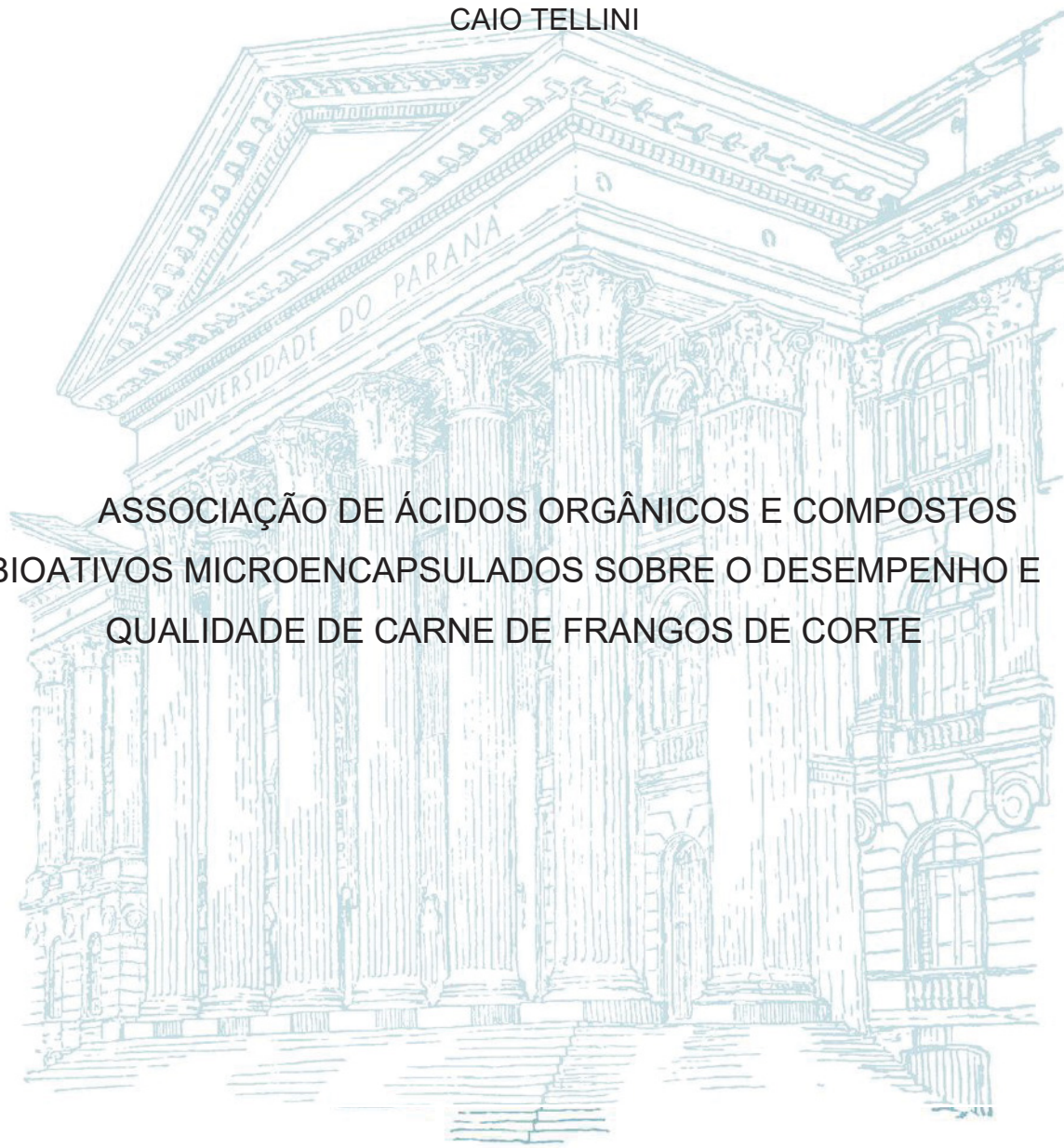


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAIO TELLINI

ASSOCIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS
BIOATIVOS MICROENCAPSULADOS SOBRE O DESEMPENHO E
QUALIDADE DE CARNE DE FRANGOS DE CORTE



PALOTINA-PR

2022

CAIO TELLINI

ASSOCIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS
BIOATIVOS MICROENCAPSULADOS SOBRE O DESEMPENHO
E QUALIDADE DE CARNE DE FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, área de concentração Produção Animal, linha de pesquisa em Nutrição e Produção Avícola, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Profa. Dra. Jovanir Inês Müller
Fernandes

PALOTINA

2022

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas.
Biblioteca UFPR Palotina.

T276

Tellini, Caio

Associação de ácidos orgânicos e compostos bioativos
microencapsulados sobre o desempenho e qualidade de carne de
frangos de corte / Caio Tellini. – Palotina, PR, 2022.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.
Orientadora: Profa. Dra. Jovanir Inês Müller Fernandes.

1. Compostos bioativos. 2. Índices zootécnicos. 3. Qualidade
de carne. I. Fernandes, Jovanir Inês Müller. II. Universidade Federal
do Paraná. III. Título.

CDU 636.5

Bibliotecária: Aparecida Pereira dos Santos – CRB 9/1653



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL -
40001016077P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **CAIO TELLINI** intitulada: **ASSOCIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS BIOATIVOS MICROENCAPSULADOS SOBRE O DESEMPENHO E QUALIDADE DE CARNE DE FRANGOS DE CORTE**, sob orientação da Profa. Dra. JOVANIR INÊS MÜLLER FERNANDES, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 28 de Abril de 2022.

Assinatura Eletrônica

13/05/2022 23:51:08.0

JOVANIR INÊS MÜLLER FERNANDES

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

18/05/2022 16:43:31.0

VINICIUS CUNHA BARCELLOS

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

14/05/2022 19:15:05.0

LEANDRO DALCIN CASTILHA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ)

R. Pioneiro, 2153 - PALOTINA - Paraná - Brasil

CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8529 - E-mail: ppgca.ufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 185351

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 185351

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Caio Tellini, filho de Maryland Rose do Valle Tellini e Marco Antonio Tellini, irmão de Taís Tellini, casado com Gabrielle Andressa Carraro Tellini, brasileiro, nasceu em Itapira, Estado de São Paulo, no dia 19 de março de 1988.

Iniciou o curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina em março de 2008 e concluiu em dezembro de 2012.

Em 2013, atuou como assistente técnico comercial na empresa Denovo-nutrition & BEA Laboratory, no Canadá, por 8 meses.

Em 2013, iniciou seus trabalhos na Safeeds Nutrição Animal onde foi responsável pela gestão da qualidade durante 4 anos.

Em 2016, iniciou o curso MBA em Gestão Empresarial na Fundação Getúlio Vargas (FGV) e concluiu em 2018.

Em 2018, assumiu a coordenação do Departamento de Marketing da Safeeds Nutrição Animal durante 1 ano.

Em 2019, assumiu o cargo de Gerente do Departamento Técnico da Safeeds Nutrição Animal.

Em março de 2020, iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina.

“Há almas atentas...
Há corações que amam...
Há olhares de esperança neste mundo...
Há lampejos de vida, de amor e de santidade por aí...”

Italo Marsili

À minha esposa, Gabrielle Tellini, pelo amor incondicional, por ser o pilar fundamental que orienta a minha vida e por me proporcionar construir uma família a partir dos valores de nossa aliança sacramentada.

Aos meus pais, Meire e Marco, responsáveis pela minha formação intelectual e humana, os quais honrarei para sempre.

À minha irmã, Taís Tellini, que sempre contará com o porto seguro do irmão mais velho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

O início de um antigo sonho de obter o título de mestre foi concretizado, mais uma vez, a partir da união com uma pessoa que tem, como sua principal característica, talvez uma das habilidades mais nobres de um professor: criar oportunidades para seus alunos.

A professora Dra. Jovanir Inês Muller Fernandes é, sem dúvidas, a responsável por quem me tornei profissionalmente e devo todo o meu sucesso profissional a ela. Foi esta pessoa que me ensinou as bases técnicas veterinárias que utilizo no meu dia-a-dia, foi esta pessoa que me ensinou, a partir do exemplo, o que é aplicar a ética na prática e ser firme nas decisões e foi esta pessoa que me proporcionou a primeira oportunidade “profissional” da carreira: estagiar em seu concorrido laboratório quando estava apenas no segundo ano da graduação.

Após 11 anos, recebi novamente a honra de ser seu orientado a fim de obter o título de mestre em ciência animal e, como de costume (quando você está ao lado de uma grande pessoa), pude aprender muito mais do que o previsto na grade de suas disciplinas. O meu agradecimento por o que você fez e representa em minha vida jamais caberá nas linhas desta dissertação.

Este trabalho não poderia ter sido conduzido sem que eu estivesse realizado em minha vida pessoal e, por isso, devo o meu eterno agradecimento à melhor esposa que um homem poderia ter, a quem faz tudo ficar calmo com sua voz doce, a quem compartilha comigo as muitas risadas e que também está sempre com seu colo disponível para me acolher.

O meu agradecimento à Gabrielle Tellini é, na verdade, por sua vida. Sem a sua luz e a honra de estar ao seu lado diariamente, eu não seria quem sou e não teria uma família tão abençoada pautada nos valores e princípios que nos levam em direção ao que realmente importa no final, à vida eterna.

À minha amada mãe, Meire Tellini, agradeço a Deus por nos permitir a cada dia novo, um dia a mais para eu ter o privilégio de estar com você. Eu sou apenas o espelho da sua criação, do que você sempre entendeu que um ser humano deveria deixar de legado para esse mundo.

Obrigado por ser quem você é, por ter me proporcionado desde a base até os dias de hoje, a inspiração para eu seguir o meu caminho baseado no seu

exemplo prático de profissionalismo, educação, valores e religiosidade. Espero te orgulhar pelo menos um terço do que você me orgulha.

Ao meu pai, Marco Tellini, agradeço por sua vida, por ter participado tão ativamente da minha infância e contribuído para eu chegar aonde estou hoje. Eu jamais esquecerei disso.

Quando penso em começar a escrever algo sobre minha irmã, Taís Tellini, o meu coração enche de alegria. A minha ligação com você transcende não só um mero oceano Atlântico, mas também este mundo.

Há quatro anos pude participar da sua defesa de mestrado em Portugal e agora estou nesta mesma posição. Obrigado por me inspirar através da sua vida, que se torna a cada dia mais autoral e bela através das linhas que você escreve.

Ao Dr. Italo Marsili, que esteve presente (e talvez não saiba o quanto) em todo o período deste mestrado, agradeço profundamente por sua obra e contribuição não só na minha vida, mas na de minha família.

O apoio e constante incentivo que recebi desde o início de Ricardo Castilho e da Safeeds Nutrição Animal foi fundamental para que eu pudesse concluir os créditos das disciplinas e realizar o experimento com as aves. Agradeço por ter a oportunidade de trabalhar em uma empresa que valoriza a contínua formação acadêmica dos seus profissionais.

A Dra. Laura Adriane Moraes Pinto agradeço pela coorientação e por todas as horas dedicadas durante a condução das análises laboratoriais, processamento dos dados e por todo suporte prestado sempre que precisei.

Registro aqui o meu agradecimento pelo comprometimento de todos os estagiários do LEA (Laboratório de Experimentação Avícola) durante a execução do experimento.

A Dra. Mariana Ornaghi, agradeço pela brilhante contribuição ao se debruçar por horas sobre inúmeras planilhas e rodar as análises estatísticas.

A UFPR e o PPGCA por disponibilizarem a estrutura e aqueles professores que contribuíram para que este momento pudesse chegar.

RESUMO

Os ácidos orgânicos (AO) e óleos essenciais (OE) têm sido usados como alternativas aos antibióticos promotores do crescimento na produção animal para melhorar os parâmetros de desempenho e das características de qualidade de carcaça, além de demonstrarem importante atividade protetiva em relação a regulação dos processos de oxidação da carne de frango, contribuindo para aumentar o tempo de prateleira e melhorar a qualidade de carne. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antioxidante de um *blend* de AO e OE contendo formiato de cálcio, ácido cítrico, ácido fumárico, óleo essencial de laranja (*Citrus sinenses*), timol e carvacrol sobre o desempenho zootécnico e rendimento de carcaça, qualidade da carne *in natura* e congelada e a avaliação do sistema redox da mucosa intestinal de frangos de corte. Foram utilizados 2016 pintos de corte distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos, oito repetições e 42 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por: T1 - ração basal (controle negativo); T2 - ração basal acrescida de bacitracina de zinco 15% (controle positivo); T3 - ração basal acrescida de 150g/t do *blend* de AO e OE; T4 - ração basal acrescida de 300g/t do *blend* de AO e OE; T5 - ração basal acrescida de 450g/t do *blend* de AO e OE; e T6 - ração basal acrescida de 600g/t do *blend* de AO e OE. O consumo de ração, peso vivo e ganho de peso foram avaliados semanalmente. O rendimento de carcaça e de cortes comerciais foi realizado aos 43 dias de idade, utilizando-se 40 aves por tratamento. Aos 42 dias de idade, foi coletado sangue de 24 aves por tratamento para determinação da atividade antioxidante (DPPH e ABTS). Amostras do peito de 16 aves por tratamento foram utilizadas para análises de DPPH, ABTS e MDA. Foram coletadas amostras do peito de 24 aves por tratamento para classificação de severidade da ocorrência de *White striping* e *Wooden breast*. Análises de qualidade da carne foram determinadas através dos parâmetros pH inicial, perda de água por pressão, análise de cor, perda de água por gotejamento, perdas de água durante o congelamento, análise de perda de água por cocção e força de cisalhamento. Para avaliação do efeito antioxidante intestinal foram quantificadas as atividades dos marcadores SOD, CAT, GST, GSH e LPO. A suplementação de ácidos orgânicos e óleos essenciais apresentaram uma resposta zootécnica dose dependente, principalmente para determinados índices de rendimento de carcaça e influenciaram a estabilidade oxidativa (TBARS) e a atividade antioxidante (DPPH) da carne de frangos de corte, impactou os índices de white striping (macro), análise de cor, perda de água por descongelamento e as enzimas antioxidantes GST e CAT.

Palavras-chave: índices zootécnicos; compostos bioativos; qualidade de carne

ABSTRACT

Organic acids (OA) and essential oils (EO) have been used as alternatives to growth-promoting antibiotics in animal production with the aim of improving performance parameters and carcass quality characteristics, in addition to demonstrating important protective activity in relation to the regulation of oxidation processes of chicken meat, contributing to increase shelf life and improve meat quality. The objective of this work was to evaluate the antioxidant effect of a blend of OA and EO containing calcium formate, citric acid, fumaric acid, orange essential oil (*Citrus sinenses*), thymol and carvacrol on the zootechnical performance and carcass yield, quality of fresh and frozen meat and the evaluation of the redox system of the intestinal mucosa of broilers. A total of 2016 broilers were distributed in a completely randomized design, with six treatments, eight replications and 42 birds per experimental unit. The treatments consisted of: T1 - basal ration (negative control); T2 - basal diet plus 15% zinc bacitracin (positive control); T3 - basal ration plus 150g/t of OA and EO blend; T4 - basal ration plus 300g/t of OA and EO blend; T5 - basal ration plus 450g/t of OA and EO blend; and T6 - basal ration plus 600g/t of OA and EO blend. Feed consumption, live weight and weight gain were evaluated weekly. Carcass yield and commercial cuts were performed at 43 days of age, using 40 birds per treatment. The yield of carcass, breast, legs, wings and abdominal fat was performed at 43 days of age, using 40 birds per treatment. At 42 days of age, blood was collected from 24 birds per treatment to determine the antioxidant activity (DPPH and ABTS). Breast samples from 16 birds per treatment were used for DPPH, ABTS and MDA analyses. Breast samples were collected from 24 birds per treatment to classify the severity of the occurrence of White striping and Wooden breast. Meat quality analyzes were determined through the parameters of pH, water loss by pressure, color analysis, water loss by dripping, water loss during freezing, analysis of water loss by cooking and shear force. To evaluate the intestinal antioxidant effect, the activities of SOD, CAT, GST, GSH and LPO markers were quantified. The supplementation of organic acids and essential oils showed a dose-dependent zootechnical response, mainly for certain carcass yield indexes and influenced the oxidative stability (TBARS) and antioxidant activity (DPPH) of broiler meat, impacted the white striping indexes (macro), color analysis, thawing water loss and the antioxidant enzymes GST and CAT.

Key words: zootechnical indices; bioactives compounds; meat quality

LISTA DE QUADROS

Revisão bibliográfica

QUADRO 1 – Concentração mínima inibitória (mMol) de ácidos orgânicos não dissociados para o crescimento de bactérias em condições aeróbicas e anaeróbicas.....	22
QUADRO 2 – Exemplos de substâncias primárias e secundárias de diferentes óleos essenciais.	26
QUADRO 3 – Porcentagens em massa do óleo essencial de casca de laranja, fracionado por destilação a vácuo.....	29
QUADRO 4 – Composição química do óleo essencial de tomilho.	31
QUADRO 5 – Composição química do óleo essencial de orégano (O. vulgare).	33

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 – Composição nutricional das dietas experimentais.....	54
Tabela 2 – Desempenho produtivo semanal de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend (B) de ácidos orgânicos e óleos essenciais.....	59
Tabela 3 – Desempenho produtivo por fase de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend (B) de ácidos orgânicos e óleos essenciais.....	60
Tabela 4 – Peso (g) de carcaça e de cortes comerciais e deposição de gordura abdominal de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend (B) de ácidos orgânicos e óleos essenciais.	63
Tabela 5 – Rendimento (%) de carcaça e de cortes comerciais e deposição de gordura abdominal de frangos de corte recebendo diferentes níveis do <i>blend</i> (B) de ácidos orgânicos e óleos essenciais.	63

Capítulo 2

Tabela 1 - Composição nutricional das dietas experimentais.....	74
Tabela 2 – Atividade antioxidante sérica (DPPH e ABTS) de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.	82
Tabela 3 – Atividade antioxidante tecidual (DPPH) aos 1, 60, 90 e 120 dias, em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do <i>blend</i> de ácidos orgânicos e óleos essenciais.....	83
Tabela 4 – Atividade antioxidante tecidual (ABTS) aos 1, 60, 90 e 120 dias, em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do <i>blend</i> de ácidos orgânicos e óleos essenciais.....	83
Tabela 5 – Concentração de malonaldeído (MDA mg/kg) na carne in natura (1 dia), 60, 90 e 120 dias, em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.....	84
Tabela 6 – Incidência de White striping e Wooden Breast em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.....	85

Tabela 7 – Fibra muscular (%), colágeno e relação Fibra muscular:Colágeno de carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.....	86
Tabela 8 – Perda de água por pressão e pH da carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.	86
Tabela 9 – Valores de luminosidade (L*), índice de vermelho (a*) e índice de amarelo (b*) em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.	88
Tabela 10 – Perdas (%) por gotejamento, descongelamento e cozimento da carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.....	89
Tabela 11 – Ruptura e elasticidade da carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do <i>blend</i> de ácidos orgânicos e óleos essenciais.....	90
Tabela 12 – Concentração dos sistemas enzimáticos intestinais superóxido dismutase, catalase, glutathione transferase, glutathione e taxa de peroxidação lipídica.	91

LISTA DE FIGURAS

Revisão bibliográfica

Figura 1 – Exemplos de ácidos orgânicos utilizados como antimicrobianos (Scicutella, 2010).....	21
---	----

Capítulo 2

Figura 1 – A: Espaço de cores tridimensional CIELAB, onde o eixo L^* representa a luminosidade da cor; B: Plano de cores bidimensional CIELAB a^*b^* , onde C representa croma e H representa matiz (Delazio et al. 2017).	88
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 ÁCIDOS ORGÂNICOS	20
2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS	25
2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS	27
2.4 POTENCIAL ANTIOXIDANTE.....	33
2.5 PROCESSOS OXIDATIVOS.....	34
2.6 TECNOLOGIA DE MICROENCAPSULAÇÃO.....	35
2.7 EFEITO ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS DE CORTE.....	36
2.8 EFEITOS SINÉRGICOS.....	37
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
4. OBJETIVOS	47
4.1 OBJETIVO GERAL	47
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
CAPÍTULO 1 – ASSOCIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS BIOATIVOS MICROENCAPSULADOS SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E RENDIMENTO DE CARCAÇA DE FRANGOS DE CORTE	48
RESUMO.....	48
ABSTRACT	49
INTRODUÇÃO	50
MATERIAL E MÉTODOS	52
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS.....	65
CAPÍTULO 2 – ASSOCIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS BIOATIVOS MICROENCAPSULADOS SOBRE A QUALIDADE DA CARNE IN NATURA E CONGELADA E A AVALIAÇÃO DO SISTEMA REDOX DA MUCOSA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE	69
RESUMO.....	69
ABSTRACT	70
INTRODUÇÃO	71

MATERIAL E MÉTODOS	72
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
CONCLUSÃO.....	91
REFERÊNCIAS.....	92
CONSIDERAÇÕES FINAIS	95

1. INTRODUÇÃO GERAL

A indústria de proteína animal derivada de frangos de corte enfrenta um desafio constante, produzir cada vez mais alimentos seguros, livre de antibióticos e em volume e custo acessível para alimentar uma população mundial de 7,9 bilhões de habitantes atualmente (WOM, 2022).

O Brasil é um importante *stakeholder* neste setor, sendo o terceiro maior produtor de carne de frango do mundo (atrás de Estados Unidos e China, respectivamente) e o maior exportador. Em 2020, o país produziu 13,845 milhões de toneladas de carne de frango, das quais 69% foram destinadas para abastecer o mercado interno e 31% para atender às exportações (ABPA, 2022).

O padrão de qualidade do produto “frango” produzido para atender ao mercado internacional é diferente do estabelecido para atender ao mercado nacional, devendo as empresas cumprirem diversas exigências de qualidade, regulamentações e padrões de sanidade específicos exigidos por cada país.

A União Europeia, desde 2006, banuiu o uso de qualquer medicamento como promotor de crescimento na produção animal (CE 2003/1831). Desta forma, para atender a este mercado, os países exportadores tiveram que adaptar os seus sistemas de produção para estarem aptos a continuar exportando.

Outros aditivos conservantes largamente utilizados na alimentação dos animais, como o etoxiquin e o formaldeído também já foram proibidos pela União Européia desde 2017 e 2018, respectivamente (EU 2017/962; EU 2018/183).

No entanto, além das imposições legais de cada país, há hoje uma pressão cada vez maior do próprio consumidor por um alimento seguro, que está cada vez mais exigente com a qualidade e rastreabilidade dos alimentos que consome. Assim, buscar alternativas aos promotores de crescimento e outras moléculas que visam a conservação dos alimentos é uma necessidade real da indústria.

A utilização de ácidos orgânicos e óleos essenciais têm demonstrado potenciais efeitos bactericidas e são promissoras alternativas aos antibióticos promotores de crescimento para o controle de microrganismos patogênicos do trato gastrointestinal de frangos de corte (Stefanello et al., 2020).

Os ácidos orgânicos são aprovados para utilização na alimentação animal de acordo com a IN 110/2020 do MAPA e seguros para o organismo dos animais

(Baaboua et al., 2018). Alguns estudos já comprovaram os efeitos da suplementação dos ácidos orgânicos, como a redução da contaminação por *Salmonella* Thyphymurium na carne dos frangos suplementados com um blend contendo ácidos acético, cítrico e propiônico (Menconi et al., 2013), redução na proliferação de *Campylobacter coli*, com o uso de ácido fórmico (Mortada et al., 2020), redução da contagem de *Salmonella* Enteridis do ceco das aves pela suplementação de um complexo a base de ácidos benzoico e capróico (Zhang et al., 2019) e redução da contagem de *Salmonella* Thyphymurium com a suplementação de um blend contendo de um *blend* a base de ácido fórmico (Adhikari et al., 2020) também demonstraram efeito positivo de um *blend* a base de ácido fórmico.

Assim como os ácidos orgânicos, os óleos essenciais também possuem efeito bactericida e são seguros para serem consumidos pelos animais, sendo que uma série deles estão listados na IN 110 do MAPA e na data-base da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2020).

Ao contrário dos antibióticos promotores de crescimento, a utilização de compostos bioativos a base de óleos essenciais como estratégia para controle de microrganismos ou melhora de performance tende a se perpetuar por muito tempo, uma vez que estes ativos, a exemplo do orégano, tomilho ou pimenta sempre estiveram presentes na alimentação dos seres humanos.

Ibrahim et al. (2021) demonstraram que a suplementação de timol na dieta frangos de corte aumentou a contagem de *Lactobacilli* e diminuiu a população de *Salmonella* Thyphymurium. Stefanello et al. (2020) também comprovaram melhora dos índices de performance, digestibilidade dos nutrientes e saúde intestinal ao utilizar um *blend* contendo timol, vanilina e eugenol microencapsulados em frangos de cortes sob um desafio intestinal promovido por *Clostridium perfringens*.

Além dos efeitos sobre a modulação da microbiota e melhora de performance dos animais, ácidos orgânicos e óleos essenciais também podem atuar como antioxidantes devido à sua afinidade por atuarem nos processos primários e secundários da oxidação. Kiyma et al. (2017) demonstraram que a suplementação de óleo de lavanda aumentou significativamente a concentração da enzima superóxido dismutase (SOD), indicando relação direta entre a suplementação do ativo via ração e o efeito protetivo antioxidante.

Cázares-Gallegos et al. (2019) avaliaram a suplementação de óleo essencial de orégano na ração de frangos de corte e observaram efeito positivo sobre a qualidade de carne, como, redução do pH da carne do peito e perdas por cocção e aumento do rendimento de carcaça.

Os mecanismos de ação relacionados à melhoria da proteção antioxidante que os óleos essenciais levam ao organismo animal se devem ao fato de as plantas sintetizarem compostos antioxidantes (como produtos secundários), os quais são majoritariamente substâncias fenólicas e terpenóides (Saccol et al. 2013). Estes compostos servem como mecanismos de defesa para neutralizar as espécies oxigênio reagentes (ROS), evitando assim o dano oxidativo às células e prolongando, conseqüentemente, o shelf life das carnes armazenadas.

A suplementação de ácidos orgânicos e óleos essenciais pode influenciar os parâmetros zootécnicos e de qualidade de carne de frangos de corte, no entanto, são necessários mais estudos sobre os mecanismos de atuação desses ativos sobre a proteção antioxidante e a qualidade da carne de frangos de corte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ÁCIDOS ORGÂNICOS

Os ácidos orgânicos e seus sais vêm sendo utilizados há décadas pelas indústrias produtoras de ração com o objetivo de controlar a contaminação de microrganismos patogênicos através da exclusão competitiva e por serem uma potencial alternativa ao uso de antibióticos promotores de crescimento, melhorando a utilização dos nutrientes da dieta e, conseqüentemente, a eficiência dos índices zootécnicos de produção (Adil, 2010).

A definição de um ácido orgânico é dada por uma substância que contém uma ou mais carboxilas em sua molécula (Penz et al., 1993) e, desta forma, podem ser classificados de acordo com o comprimento da cadeia de carbonos, em três grupos principais: ácidos graxos de cadeia curta (AGCC); ácidos graxos de cadeia média (AGCM) e ácidos graxos de cadeia longa (AGCL).

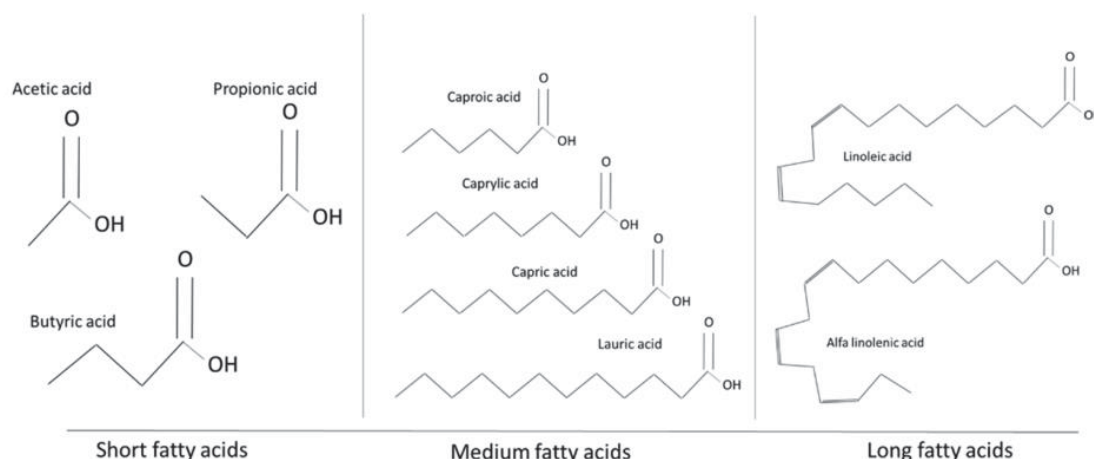


Figura 1 – Exemplos de ácidos orgânicos utilizados como antimicrobianos (Scicutella, 2010).

Embora existam diversos ácidos orgânicos conhecidos, nem todos estão disponíveis nos volumes que a indústria de alimentação animal necessita, alguns não são economicamente viáveis e outros não possuem eficácia para o objetivo de utilização proposto. Assim, alguns dos principais ácidos orgânicos utilizados na nutrição animal são: ácido fumárico, sórbico, málico, cítrico, acético, láctico, propiônico e fórmico.

A demonstração direta do mecanismo de ação bactericida dos ácidos orgânicos acontece devido a característica lipofílica destas substâncias, uma vez que quando estão na forma não dissociada, são capazes de penetrar na parede celular das bactérias. Assim, quando acessam o interior da célula, se dissociam doando íons H^+ , o que leva a uma redução de pH e acúmulo desta carga, forçando a célula bacteriana a gastar toda a energia para expulsar os íons H^+ e assim tentar reequilibrar o gradiente de concentração (Lippens et al., 2006).

A eficácia dos ácidos orgânicos puros ou combinados é o resultado da concentração, pKa e da capacidade de quelação, que, em combinação, são responsáveis pela quebra do metabolismo de aminoácidos, síntese do DNA e metabolismo energético dos microrganismos, apresentando assim uma ação bactericida (Adams, 1999). Portanto, cada ácido orgânico possui a sua própria especificidade e mecanismo de atuação sobre o controle de bactérias patogênicas. No quadro 1 é apresentada a concentração mínima inibitória de

ácidos orgânicos não dissociados para o crescimento de bactérias em condições específicas.

QUADRO 1 – Concentração mínima inibitória (mMol) de ácidos orgânicos não dissociados para o crescimento de bactérias em condições aeróbicas e anaeróbicas.

	Ácido láctico		Ácido acético		Ácido fórmico	
	Aeróbio	Anaeróbio	Aeróbio	Anaeróbio	Aeróbio	Anaeróbio
<i>Enterobacter agglomerans</i>	7	6	4	2	0,7	0,7
<i>Escherichia coli</i>	7	4	8	6	0,9	1,0
<i>Rahnella aquatilis</i>	7	5	8	7	1,1	1,0
<i>Serratia fontiola</i>	8	6	7	3	0,9	0,8
<i>Hafnia Alvei</i>	8	7	9	9	0,9	1,2
<i>Salmonella typhimurium</i>	7	4	9	5	0,8	0,8
<i>Yersinia enterocolitica</i>	6	4	6	4	0,7	0,5

Adaptado de Ostling e Lindgren (1993)

O ácido cítrico é um exemplo de ácido orgânico que vem sendo utilizado em dietas de frangos de corte devido ao efeito positivo sobre a saúde e o crescimento (Fik et al., 2020). Em um estudo conduzido com frangos de corte, Khosravinia et al. (2015) observaram que a adição de 30g/kg de ácido cítrico na dieta, melhorou importantes índices zootécnicos, incluindo o comprimento das vilosidades, profundidade de cripta e número de células caliciformes no duodeno, jejuno e íleo em comparação com as aves controle.

Os resultados encontrados por Hajati (2018) corroboram os achados anteriores de que a adição de ácido cítrico em rações para frangos de corte melhora o ganho de peso, aumenta o consumo de ração e melhora a conversão alimentar.

Sultan et al. (2015) e Chowdhury et al. (2009) relataram que a utilização de ácido cítrico produziu um ambiente ácido no intestino, favorecendo o desenvolvimento de lactobacilos e, consequentemente, inibindo a replicação de *Salmonella* spp., *E. coli* e outras bactérias gram negativas.

A produção industrial do ácido cítrico pode ser feita através da purificação de frutas cítricas; por via química; ou por via fermentativa, sendo esta a forma mais econômica e amplamente utilizada para a obtenção desse produto. Mais de 90% do ácido cítrico produzido no mundo é obtido através da técnica fermentativa, que apresenta algumas vantagens em relação a outros processos.

No processo de fermentação as operações são simples para os operadores, a planta geralmente necessita de sistemas de controle menos sofisticados e o consumo de energia é significativamente menor (Soccol et al., 2006).

O ácido fórmico é outro ácido orgânico que apresenta grande potencial para substituir os antibióticos promotores de crescimento, entretanto, de acordo com Ragaa et al. (2016), o forte odor e o alto potencial corrosivo limitam a utilização. Por outro lado, as formas de sais desse ácido têm se apresentado como uma alternativa viável ao ácido puro, devido a facilidade de manuseio, baixo poder corrosivo e efetiva ação contra bactérias patogênicas ao longo do trato gastrointestinal.

Gazalah et al. (2011) observaram que a adição de 0,5% de ácido fórmico na ração de frangos de corte promoveu o melhor resultado de ganho de peso e conversão alimentar aos 42 dias em relação ao tratamento controle. Estes resultados confirmam os de García et al. (2007), que concluíram que dietas contendo de 0,5% a 1,0% de ácido fórmico apresentaram resultados semelhantes a um tratamento contendo avilamicina, contribuindo para promover os índices zootécnicos e melhorar o aproveitamento de nutrientes. Além disso, foi observado efeito positivo do ácido fórmico sobre a mucosa intestinal.

Em uma avaliação *in vitro*, Al-Natour et al. (2005) demonstraram a ação bactericida do ácido fórmico em diferentes níveis de suplementação na ração (0,0%, 0,5%, 1,0 e 1,5%) sobre *Salmonella gallinarum*. Os resultados indicaram que o aumento das concentrações de ácido fórmico reduziu a contagem de *S. gallinarum*, comprovando a perda de viabilidade das células bacterianas. Esse resultado comprovou a alta atividade antibacteriana do ácido fórmico em diferentes níveis de suplementação e em momentos diferentes após o tratamento das rações.

A produção industrial atual de ácido fórmico envolve uma metodologia de duas etapas baseada em combustíveis fósseis, reagindo primeiramente o metanol com CO (monóxido de carbono) para gerar, em seguida, formiato de metila, o qual é então hidrolisado para formar o ácido fórmico. No entanto, já existem novas técnicas disponíveis para produção em larga escala utilizando recursos renováveis, como a síntese a partir da conversão de biomassa, os quais são de escolha visando mitigar a emissão de carbono (Chen et al., 2020).

O ácido fumárico tem demonstrado efeito positivo em diversos estudos quando adicionado na dieta de frangos de corte sobre a digestibilidade de nutrientes, segurança para o organismo e melhoria da saúde intestinal (Islan et al., 2008; Attia et al., 2018)

Ding et al. (2020) observaram em um modelo experimental que frangos de corte mantidos sob condições de altas temperaturas e alimentados com dietas suplementadas com ácido fumárico, apresentaram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar do que o grupo controle. Os autores atribuem esse resultado a melhor utilização dos nutrientes, devido ao efeito bactericida promovido, à melhoria do metabolismo energético e ao aumento da capacidade de transporte de oxigênio sérico.

Banday et al. (2015) avaliaram que a suplementação de 1,5% de ácido fumárico via ração melhorou o ganho de peso das aves em relação ao grupo controle. Kamal e Ragaa (2014) também observaram um aumento de 12,5% no ganho de peso quando as aves receberam a suplementação de 0,3% de ácido fumárico via dieta.

O processo de produção do ácido fumárico em escala comercial deriva da indústria petroquímica, o qual ocorre através da isomerização do ácido maleico, obtido a partir da hidrólise do composto anidrido maleico e que, por sua vez, é produzido a partir da oxidação do hidrocarboneto benzeno. Assim, devido ao esgotamento das reservas de petróleo e a necessidade de alternativas que atendam a sustentabilidade do meio ambiente global, novas tecnologias renováveis de produção a partir de biomassa vem sendo empregadas, como a fermentação.

Além disso, o aumento do custo da principal matéria-prima utilizada nos processos de produção via rota petroquímica, ou seja, o anidrido maleico (que representa de 60 a 70% do custo total de produção), impulsiona a tendência de transição de uma economia baseada em combustíveis fósseis para uma economia de base biológica através de fermentação (Das et al., 2016).

Os ácidos orgânicos possuem ainda a capacidade de promover efeitos antioxidantes sobre o organismo animal combatendo as espécies reativas de oxigênio (ROS), já que através da doação de átomos de hidrogênio são capazes de retardar a degradação enzimática, agir como agentes quelantes (ligando-se a metais como ferro e cobre) e prevenir a oxidação oriunda da catálise de metais-

íons. Assim, a utilização de ácidos orgânicos na dieta pode exercer um papel importante sobre a melhoria da qualidade da carne, uma vez que atuam diretamente sobre os radicais livres gerados pelo estresse oxidativo evitando a oxidação dos ácidos graxos polinsaturados e degradação de proteínas (Lima, 2016).

2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos utilizados na alimentação animal são substâncias primárias ou secundárias, normalmente encontradas em plantas ou em determinados ingredientes, responsáveis por exercer funções antioxidante, anti-inflamatória ou bactericida, conforme demonstrado no quadro 2.

As substâncias ou metabólitos primários são macromoléculas, produzidas pelo metabolismo vegetal que, através de rotas biossintéticas elaboradas, diversas e freqüentemente desconhecidas, dão origem às substâncias ou metabólitos secundários, os quais são micromoléculas que possuem normalmente uma estrutura complexa, de baixo peso molecular, com marcantes atividades biológicas e caracterizados por se apresentarem em concentrações menores (Rozwalka et al., 2008).

QUADRO 2 – Exemplos de substâncias primárias e secundárias de diferentes óleos essenciais.

Óleo essencial	Parte da planta	Fonte botânica	Componentes principais	% do total
Angélica	Raízes	<i>Angelica archangelica</i> L.	α -Pinene	24.7
			6-3-Carene	10.5
			α -Phellandrene + myrcene	10.8
			limonene	12.9
			β -Phellandrene	10.4
			p-Cymene	7.7
Bergamota	Frutas	<i>Citrus bergamia</i> Risso et Poit	β -Pinene	7.7
			Limonene + β -phellandrene	39.4
			γ -Terpinene	8.6
			Linalool	11.1
			Linalyl acetate	28.0
			(E)-Cinnamaldehyde	77.1
Canela	Casca interna	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blu.	Eugenol	7.2
Coentro	Sementes	<i>Coriandrum sativum</i> L.	p-Cymene	6.1
			Linalool	72.0
Dill (indiano)	Sementes	<i>Anethum sowa</i> Roxb	Limonene	50.9
			trans-Dihydrocarvone	10.4
			Carvone	20.3
			Dillapiole	36.6
Eucalipto	Folhas	<i>Eucalyptus citriodora</i> K.D. Hill	Citronellal	72.8
			Citronellol	14.5

Adaptado de Benchaar et al. (2008)

Os principais grupos de compostos com atividade biológica, extraídos de plantas incluem óleos essenciais, terpenóides, alcalóides, lectinas, polipeptídeos, polifenóis, quinonas, flavonoides e taninos (Valdevite, 2007).

Segundo Bastos et al. (2009), a ação antioxidante, comumente atribuída a estes compostos, pode ser explicada devido ao potencial de óxido-redução de determinadas moléculas, à capacidade em competir por sítios ativos e receptores nas diversas estruturas celulares, além de modular a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em mecanismos intracelulares de defesa contra processos oxidativos degenerativos de estruturas celulares (DNA e membranas).

A ação anti-inflamatória de compostos bioativos é discutida por Soares et al. (2019). Esses autores correlacionam esse efeito ao mecanismo de interação com as células de defesa do sistema imune. Os macrófagos presentes nos tecidos do organismo animal são células importantes durante o processo inflamatório, uma vez que atuam como reguladores imunológicos devido à capacidade de liberar mediadores pró-inflamatórios. Uma vez que, grande parte da atividade dos macrófagos é atribuída à ativação do fator nuclear kB, os compostos bioativos podem ser considerados agentes anti-inflamatórios promissores devido a capacidade em reduzir a ativação de NF-kB e eliminar ROS/RNS.

Além das ações antioxidantes e anti-inflamatórias, diversos estudos demonstram a eficácia bactericida dos compostos bioativos. De acordo com Souza et al. (2016), o mecanismo de ação que promove a ação bactericida está ligado diretamente à ação sobre a membrana celular da célula bacteriana, uma vez que os óleos essenciais e seus componentes possuem características hidrofóbicas, que permitem que eles se difundam através da bicamada fosfolipídica, causando perturbação da membrana citoplasmática, danos nas proteínas da membrana, coagulação do citoplasma, alteração no fluxo de elétrons, interrupção da força próton motriz, alteração do transporte ativo e redução do pool de ATP intracelular.

2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são compostos químicos voláteis, caracterizados por aromas próprios e frequentes atividades antimicrobianas e antioxidantes. Estes compostos são extraídos dos tricomas de determinadas plantas através de processos de destilação, utilizando apenas vapor (destilação por arraste a vapor), água e vapor ou somente água (hidrodestilação); ou ainda através do processamento mecânico a partir dos pericarpos de frutos cítricos, extração com solventes orgânicos ou com fluido supercrítico (Busato et al., 2014).

As restrições cada vez mais severas em relação a utilização de antibióticos promotores de crescimento em dietas de frangos de corte levaram os pesquisadores a buscarem novas tecnologias sustentáveis que pudessem ser utilizadas pela indústria. Desta forma, os óleos essenciais têm se apresentado

como uma alternativa com grande potencial para substituir estes fármacos tradicionais pois, além de possuírem efeito bactericida, são considerados naturais, menos tóxicos e livres de resíduos quando comparado com os antibióticos promotores do crescimento (Zhai et al., 2018).

As atividades bactericidas dos óleos essenciais têm sido alvo de diversos estudos *in vitro* e *in vivo*. Santurio et al. (2007) avaliaram *in vitro* a atividade antibacteriana de óleos essenciais extraídos de orégano (*Origanum vulgare*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e canela (*Cinnamomum zeylanicum*), frente a 60 isolados de *Salmonella enterica* e comprovaram a concentração inibitória mínima destes compostos. Nesta mesma linha de investigação, Beraldo et al. (2013) comprovaram o efeito bactericida dos óleos de canela e cravo-da-índia contra bactérias gram positivas (*Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*) e gram negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella* sp.)

Lee et al. (2020) demonstraram em um estudo *in vivo* com frangos de corte que a suplementação de um *blend* de óleos essenciais microencapsulados a base de timol e carvacrol aumentou o ganho de peso das aves quando comparado com o grupo controle desafiado com coccidiose. Os resultados encontrados por Youssef et al. (2020) num estudo que propôs a avaliação de *blend* contendo anis estrelado, alecrim, tomilho e orégano também comprovaram que os óleos essenciais promoveram maior ganho de peso quando comparado ao grupo controle.

No Brasil, a grande produção de suco de laranja faz com que o óleo essencial extraído dessa fruta ganhe relevância tanto em termos de volume quanto em competitividade comercial. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) demonstram que o país produziu aproximadamente 17 milhões de toneladas de laranja no ano de 2020, o que movimentou R\$10,8 bilhões, sendo a maior parte produzida no estado de São Paulo, seguido por Minas Gerais e Bahia, respectivamente.

A maior parte da produção brasileira de laranjas destina-se à indústria de suco, concentrada no estado de São Paulo, sendo responsável por 77% das laranjas e 98% do suco que o Brasil produz. O estado de São Paulo, concentra as maiores empresas produtoras de suco de laranja do país representadas por indústrias de grande porte e com produção em grande escala (Rezzadori, 2009; IBGE, 2022).

Os principais subprodutos do reaproveitamento dos resíduos da indústria de laranja utilizados atualmente pelas indústrias alimentícias, químicas e farmacêuticas são, percentualmente, farelo (49,24%); células congeladas (2,67%); óleos essenciais (1,79%); D-limoneno (0,92%); e líquido aromático (0,57%) (da Silva et al. 2020).

De acordo com Silva (2021), dos compostos encontrados no óleo essencial de laranja (*C. sinensis*), o limoneno é o componente majoritário, cuja composição pode representar até 98% em relação aos demais ativos. Os estudos de Pauletti e Silvestre (2018) corroboram este dado, apresentado no quadro 3 e os demais compostos secundários presentes no óleo essencial de laranja.

QUADRO 3 – Porcentagens em massa do óleo essencial de casca de laranja, fracionado por destilação a vácuo.

Componente	Óleo bruto (% m/m)
Limoneno	96,68
Mirceno	1,74
Sabineno	0,51
α pineno	0,46
Linalol	0,37
β -felandreno	0,24

Adaptado de Pauletti e Silvestre (2018)

Everton et al. (2020) avaliaram a concentração inibitória mínima (MIC) do óleo essencial de laranja (*C. sinensis*) frente aos microrganismos *E. coli* e *S. aureus* e encontraram os resultados 75 e 10 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Frassinetti et al. (2011) ao testarem o mesmo óleo frente as bactérias gram negativas *X. campestris pv citri*, *S. cholerae* e *P. aeruginosa*, encontraram os resultados de 20, 50 e 75 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, enquanto que para as gram positivas *S. aureus*, *E. faecalis* e *E. aerogenes* os resultados obtidos foram de 200, 150 e 100 $\mu\text{g/mL}$, comprovando a eficácia bactericida *in vitro* do óleo essencial de laranja.

Souza et al. (2021) avaliaram *in vivo* a suplementação de óleo essencial de laranja (*C. sinensis*) em frangos de corte e observaram que aos 21 dias de idade, as aves que receberam 400 mg/kg do produto apresentaram maior ganho de peso, maior altura de vilo e profundidade de cripta da mucosa do jejuno

indicando que a suplementação com óleo essencial de laranja aumentou a área de absorção do intestino.

Em contraste com estes resultados, Erhan et al. (2017) não observaram efeitos da suplementação do mesmo óleo de laranja sobre o ganho de peso, rendimento de carcaça e peso de fígado e coração. No entanto, as aves que foram suplementadas com óleo de laranja apresentaram melhor conversão alimentar.

Aydin et al. (2018) também testaram a suplementação de diferentes níveis de óleo de laranja e observaram maior peso vivo, consumo alimentar, eficiência alimentar, rendimento de carcaça, peso do peito, asa, coração e gordura abdominal em relação ao grupo não suplementado.

Estes trabalhos demonstram que a eficácia do óleo essencial de laranja (*C. sinensis*) pode estar relacionada ao nível de suplementação na dieta, aparentemente tendo uma concentração mínima a ser suplementada para que a melhoria de parâmetros zootécnicos possa ser observada.

Outro aditivo que vem sendo estudado é o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*). O timol é o composto primário e, por tanto, o principal ativo presente, representando cerca de 55% da composição química do óleo (Quadro 4).

QUADRO 4 – Composição química do óleo essencial de tomilho.

COMPOSTO	% DE COMPOSTOS
Triciclono	0,93
α -pineno	0,64
Canfeno	0,63
β -pineno	0,8
Mirceno	1,23
α -Terpineno	0,45
<i>p</i> -Cimeno	15,49
Limoneno	0,31
β -felandreno	0,1
Eucaliptol	0,5
γ -Terpineno	6,9
Terpinoleno	0,01
Linalol	1,8
Cânfora	0,66
Borneol	1,74
Terpin-4-ol	0,55
α -Terpineol	0,27
Formato de Isobornila	0,15
Acetato de Bornila	0,37
Timol	54,89
Carvacrol	3,18
Cariofileno	1,05

Adaptado de Jakiemiu et al. (2010)

Industrialmente o timol é sintetizado, em fase líquida, através da alquilação do m-cresol sobre alumina ativada a 359 °C e 50 ATM de pressão com isopropanol e, em fase gasosa, sobre sulfatos metálicos ou gama alumina utilizando propileno como agente alquilante. Neste processo, o uso de alta temperatura e pressão são as duas principais desvantagens que adicionam custo na produção deste produto (Malkar et al., 2017).

Cetin-Karaca et al. (2015) avaliaram o potencial antimicrobiano *in vitro* (MIC) do timol frente a diferentes microrganismos patogênicos e de importância na produção animal, atestando sua eficácia através dos seguintes resultados: *E. coli* (<20ppm); *S. paratyphi* (>20ppm); *S. Enteritidis* (>20ppm). Kuaté et al. (2021) avaliaram a MIC do timol contra diferentes sorovares de *Salmonella enterica* e encontraram o ponto de susceptibilidade a 128 µg/mL para *S. Typhimurium* e *S. Choleraesuis* e de 64 µg/mL para *S. Typhi*.

Shad et al. (2016) concluíram que a suplementação de 250 mg/kg de timol na dieta de frangos de corte pode amenizar o efeito negativo do estresse térmico em frangos de corte, melhorando o ganho de peso e a conversão alimentar, além de aumentar a ingestão de água. Abdel-Wareth (2011) demonstrou que a adição de 300 e 400 mg/kg resultaram em até 10% de melhora no ganho de peso, 6% de maior consumo alimentar e 5% de melhoria na conversão alimentar, quando comparado ao grupo controle.

O carvacrol é o composto majoritário presente no orégano (*Origanum vulgare*) correspondendo por cerca de 54% da composição do óleo essencial desta planta (Quadro 5).

As moléculas de carvacrol e timol são isômeras de fenol monoterpênicos, com pesos moleculares semelhantes, mas com características físicas distintas, enquanto que o primeiro possui cor amarela clara e odor pungente, o segundo caracteriza-se por ser uma substância branca com odor aromático e sabor acre (Ferreira, 2022).

Estudos *in vitro* têm demonstrado a eficiência bactericida do carvacrol, conferindo a molécula, potencial alternativa ao uso de antibióticos. Lu e Wu (2010) encontraram a concentração inibitória mínima de 0,2 mg/mL frente a diferentes sorovares de *Salmonella enterica*: Kentucky; Senftenberg; Enteritidis; e Typhimurium. Rivas et al. 2010 determinaram a MIC do carvacrol contra outras bactérias, corroborando o efeito bactericida: *E. coli* O111 (0,5 mg/mL); *L. monocytogenes* (1,0 mg/mL); *S. aureus* (1,0 mg/mL).

Kelly et al. (2017) observaram aumento da superfície epitelial e da produção da camada interna de muco, através do aumento na altura das vilosidades do intestino delgado de frangos de corte que receberam suplementação dietética de carvacrol. Além disso, os resultados demonstraram que durante as fases inicial (0-10 dias) e crescimento (11-21 dias), houve aumento de *Lactobacillus* spp. e diminuição de *E. coli* no ceco das aves suplementadas com carvacrol.

QUADRO 5 – Composição química do óleo essencial de orégano (*O. vulgare*).

COMPOSTO	% DE COMPOSTOS
a-Thujene	0.3
a-Pinene	0.4
b-Pinene	0.2
3-Octanone	0.4
Myrcene	0.6
a-Terpinene	0.8
<i>p</i> -Cymene	5.5
1,8-Cineole	0.6
c-Terpinene	6.0
<i>cis</i> -Sabinene-hydrate	0.3
Linalool	1.1
<i>trans</i> -Sabinene hydrate	0.2
b-Thujone	0.4
4-Terpineol	0.8
a-Terpineol	0.5
Methyl chavicol	0.3
Methyl thymol	0.3
Methyl carvacrol	1.5
Thymol	22.1
Carvacrol	54.7
b-Caryophyllene	1.5
b-Bisabolene	0.6
d-Cadinene	0.2
Caryophyllene oxide	0.3

Adaptado de Prietto et al. (2007)

2.4 POTENCIAL ANTIOXIDANTE

Os ácidos orgânicos e os óleos essenciais possuem potencial antioxidante e mecanismos de ação já elucidados disponíveis na literatura.

O ácido cítrico e derivados do ácido fosfórico, podem prolongar a vida de prateleira de alimentos ricos em lipídios devido às suas propriedades quelantes. Alguns ácidos formam complexos termodinamicamente estáveis com os íons de metais de transição e são eficazes em impedir o efeito pró-oxidante de metais, como o cobre. O ácido cítrico, amplamente utilizado em alimentos, é um agente quelante muito eficaz em retardar a deterioração oxidativa de lipídios e é comumente adicionado a óleos vegetais (Gordon, 1990).

O mecanismo de ação que explica a ação antioxidante dos óleos essenciais está vinculado a composição destes compostos. Apesar da grande diversidade química entre os compostos bioativos, os principais componentes dos óleos essenciais podem ser classificados em duas famílias estruturais: terpenóides e fenilpropanóides. Ambas as famílias compreendem compostos fenólicos, frequentemente considerados os principais componentes de vários óleos essenciais (Amorati et al., 2013).

Os compostos responsáveis pela atividade antioxidante conferida aos óleos essenciais, são principalmente aqueles que possuem um ou mais grupos hidroxila ligados ao anel aromático e elétrons disponíveis para serem doados. Assim, o timol e o carvacrol são exemplos de terpenóides antioxidantes, pois possuem um grupo hidroxila ligado ao anel aromático (Lima e Cardoso, 2013).

Os fenilpropanóides, como o eugenol, devido a sua constituição química, são antioxidantes naturais tanto pelo tamponamento direto de radicais livres através da doação de elétrons de suas hidroxilas quanto através da reciclagem da maquinaria antioxidante celular, como a glutatona oxidada (Cunha et al., 2018).

2.5 PROCESSOS OXIDATIVOS

O processo de oxidação de lipídios é uma reação natural e inevitável que pode ser dividida em três etapas: iniciação, propagação e terminação, as quais são mediadas por moléculas que buscam o equilíbrio, sequestrando ou doando elétrons (Souza et al., 2018)

A etapa de iniciação decorre da interação de um iniciador com oxigênio, que quando ativado, pode reagir com os ácidos graxos polinsaturados, ocorrendo retirada de um átomo de hidrogênio do carbono metilênico adjacente à ligação dupla CIS do ácido graxo. Este processo resulta na formação de radicais alílicos, os quais dão origem a um dieno conjugado (Camargo et al., 2013).

Em seguida ocorre a etapa de propagação, na qual o radical livre é atacado por molécula de oxigênio, formando o radical livre peróxido. Este radical peróxido ataca uma nova molécula de gordura, formando hidroperóxido e mais um radical livre, iniciando assim o processo de oxidação em cadeia. Se o

oxigênio disponível for suficiente e não houver nenhuma ação antioxidante adicional, esta etapa continuará degradando o produto (Chorilli et al., 2007).

Na etapa de terminação, as reações têm como característica a formação de produtos finais estáveis ou não reativos. Os radicais alcoxila, que participam de reações de decomposição, também podem sofrer epoxidação, polimerização ou reagir com outros grupos alquila, gerando como saldo desta etapa os derivados da decomposição de hidroperóxidos, como álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e outros hidrocarbonetos (Ferrari, 1998).

Em matérias primas, a oxidação pode reduzir os valores nutricionais dos alimentos, além de influenciar negativamente características organolépticas, como: textura, sabor e odor. Com isso, não só o consumo do animal poderá ser afetado como também a disponibilidade dos nutrientes da dieta (Silva, 2020)

A oxidação é, por tanto, uma reação em cadeia e os efeitos do consumo de uma ração oxidada alcança o sistema digestório desencadeando lesões nas células o que causa o estresse oxidativo. Esses danos perturbam a homeostase e consequentemente prejudicam o metabolismo e o sistema imune refletindo negativamente sobre a saúde e longevidade dos animais (Engers et al., 2011).

2.6 TECNOLOGIA DE MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação consiste em um processo mecânico ou físico-químico que imobiliza e protege os ativos em um material encapsulante, gerando partículas com diâmetro de poucos milímetros, que são capazes de manter sua estrutura mesmo sob condições adversas do meio ao qual estão submetidas, sendo dissolvidas e liberando o material encapsulado no local ideal para exercer a função planejada. (Simeoni et al. 2014)

Os ácidos orgânicos e óleos essenciais são substâncias voláteis e, portanto, a microencapsulação destes ingredientes contribui para proteger suas características organolépticas, minimizando a degradação ou perda de seus compostos durante os processos industriais, como peletização e extrusão (de Barros Fernandes et al. 2014).

Existem diversas técnicas que podem ser empregadas para microencapsular ingredientes alimentícios, como atomização, emulsificação e extrusão. Assim, a escolha do método depende de determinados fatores, como:

a aplicação que será dada a microcápsula, do tamanho da partícula, do mecanismo de liberação e das propriedades físico-químicas do material ativo e do agente encapsulante. (Simeoni et al. 2014)

De acordo com Lorenz (2012), a técnica de emulsificação consiste na formação da cápsula a partir de duas etapas: a dispersão dos ativos em uma fase inicial e a suspensão polimérica, dentro de uma fase orgânica, como um óleo vegetal, resultando no produto final encapsulado. Pereira (2015) afirma que que os sistemas de microencapsulação que utilizam lipídios em sua formulação demonstram efeitos positivos sobre a absorção, devido a influência do meio lipídico nas interações que ocorrem no trato gastrointestinal, melhorando a absorção de moléculas lipofílicas, a dissolução, a permeabilidade intestinal e o tempo de residência gastrointestinal. Nesta técnica os ativos são liberados no lúmen intestinal através da ação das lipases do próprio organismo, responsáveis por realizarem a digestão das partículas lipídicas.

2.7 EFEITO ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS DE CORTE

A carne de frango é particularmente propensa aos efeitos da oxidação devido à alta concentração de ácidos graxos polinsaturados presentes em seus tecidos. Isto ocorre, em parte, devido a adição de óleos nas dietas, que pode alterar a composição de ácidos graxos dos lipídios presentes nas mitocôndrias e microssomas (Florou-Paneri et al., 2006). Portanto, aumentar o grau de insaturação das membranas musculares devido aos ingredientes presentes na formulação da dieta aumenta a probabilidade de formação de peróxidos nos tecidos musculares (Florou-Paneri et al., 2006).

Assim, a suplementação de antioxidantes através da ração pode ser uma estratégia eficiente para introduzir compostos antioxidantes lipossolúveis nos tecidos da membrana fosfolipídica dos animais, com o objetivo de inibir as reações oxidativas nestes locais (Lauridsen et al., 1997).

Em um experimento *in vivo*, Luna et al. (2010) avaliaram a suplementação de carvacrol e timol adicionados isoladamente na dosagem de 150 mg/kg em ração de frangos de corte. O armazenamento de amostras de peito e coxa por 5 a 10 dias aumentou significativamente os níveis de malonaldeído no grupo

controle em comparação aos 3 grupos suplementados. Portanto, a aplicação dos antioxidantes naturais timol ou carvacrol pode ser útil para melhorar a qualidade da carne de frango.

2.8 EFEITOS SINÉRGICOS

Os efeitos bactericidas e antioxidantes dos ácidos orgânicos e óleos essenciais podem ser potencializados quando estas substâncias atuam em sinergia.

Em relação ao potencial bactericida, o efeito sinérgico é promovido através da capacidade dos óleos essenciais em alterar a permeabilidade e integridade da membrana celular e mitocondrial dos microrganismos, tornando-as mais permeáveis e permitindo que os ácidos orgânicos atuem aumentando a acidificação citoplasmática através do desacoplamento da produção e regulação de energia, e por acúmulo do ânion ácido dissociado a níveis tóxicos (Carneiro, 2018; Ramos, 2021).

A sinergia relacionada a ação antioxidante ocorre devido aos ácidos orgânicos atuarem como agentes quelantes de metais, como o ferro e o cobre, retardando a oxidação oriunda da catálise destes elementos, enquanto que os óleos essenciais participam de diversos processos, desde a prevenção da formação do agente oxidante, a captura de oxidantes ativos, a redução de intermediários reativos, até a indução de sistemas de reparo (Fascina, 2011; Silveira, 2012).

Além disso, a mistura de determinados ácidos orgânicos pode promover efeito sinérgico quando são combinados entre si (Peh et al., 2020). Chaveerach et al. (2002), ao avaliarem um *blend* entre ácidos fórmico, acético e propiônico frente a *Campylobacter* spp., comprovaram que as taxas de redução *in vitro* em pH 4,5 foram muito mais altas quando comparado com as taxas dos ácidos orgânicos individuais.

O mesmo princípio sinérgico ocorre com os compostos bioativos primários e secundários dos óleos essenciais. Zhou et al. (2007) observaram efeito aditivo entre timol e carvacrol ao avaliarem diferentes relações de suplementação entre estas moléculas, embora o mecanismo de ação seja desconhecido.

Os achados de Moleyar et al. (1992) também corroboram o efeito sinérgico entre cinemaldeído e eugenol, quando misturados na relação de 250 e 500 µg/mL, respectivamente, inibindo completamente o crescimento de *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp. e *Enterobacter* sp., enquanto que os mesmos compostos isolados não foram eficientes em inibir o crescimento bacteriano.

Existe ainda o efeito sinérgico entre ácidos orgânicos e óleos essenciais, demonstrado por Gole et al. (2020) ao avaliarem a combinação de óleo essencial de cravo e ácidos orgânicos, os quais promoveram um efeito positivo tanto sobre a saúde intestinal, quanto sobre a imunidade de frangos de corte.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-Wareth, A. A. A. M. (2011). Effect of thyme, oregano and their major active components on performance and intestinal microbial populations of broilers.

ABPA Associação Brasileira de Proteína Animal (https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf), março 2022.

Adhikari, P., Yadav, S., Cosby, D. E., Cox, N. A., Jendza, J. A., & Kim, W. K. (2020). Research Note: Effect of organic acid mixture on growth performance and Salmonella Typhimurium colonization in broiler chickens. *Poultry Science*, 99(5), 2645-2649.

Adil, S., Banday, T., Bhat, G. A., Mir, M. S., & Rehman, M. (2010). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Veterinary medicine international*, 2010.

Al-Natour, M. Q., & Alshawabkeh, K. M. (2005). Using varying levels of formic acid to limit growth of Salmonella gallinarum in contaminated broiler feed. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 18(3), 390-395.

Amorati, R., Foti, M. C., & Valgimigli, L. (2013). Antioxidant activity of essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(46), 10835-10847.

Attia, F. M. (2018). Effect of organic acids supplementation on nutrients digestibility, gut microbiota and immune response of broiler chicks. *Egyptian Poultry Science Journal*, 38(1), 223-239.

Aydin, A., & Alçiçek, A. (2018). Effects of the supplementation of essential oil isolated from orange peel (*Citrus sinensis* L.) to broiler diets on the performance. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(2), 127-135.

Banday, M. T., Adil, S., Khan, A. A., & Untoo, M. (2015). A study on efficacy of fumaric acid supplementation in diet of broiler chicken. *International Journal of Poultry Science*, 14(11), 589.

Bastos, D. H., Rogero, M. M., & Arêas, J. A. G. (2009). Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 53(5), 646-656.

Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Colombatto, D., McAllister, T. A., & Beauchemin, K. A. (2008). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4), 209-228.

Beraldo, C., Daneluzzi, N. S., Scanavacca, J., Doyama, J. T., Fernandes Júnior, A., & Moritz, C. M. F. (2013). Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-

da-índia como sanitizantes na indústria de alimentos. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 43(4), 436-440.

Busato, N. V., Silveira, J. C., Costa, A. O. S. D., & Costa Junior, E. F. D. (2014). Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. *Ciência Rural*, 44, 1574-1582.

Camargo, B., Viana, C. E., do Amaral, M. T., Azevedo, M. L., & Augusti, P. R. (2013). Etapa das Reações de Oxidação Lipídica na Qualidade de Pescado. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, 5(2).

Carneiro, A. P. C. (2018). Estudo da microbiota formadora de histamina em cavala (*Scomberomorus cavalla*) e avaliação da atividade bactericida de óleos essenciais.

Cázares-Gallegos, R., Silva-Vázquez, R., Hernández-Martínez, C. A., Gutiérrez-Soto, J. G., Kawas-Garza, J. R., Hume, M. E., & Méndez-Zamora, G. M. (2019). Performance, carcass variables, and meat quality of broilers supplemented with dietary Mexican oregano oil. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 21.

Cetin-Karaca, H., & Newman, M. C. (2015). Antimicrobial efficacy of plant phenolic compounds against *Salmonella* and *Escherichia Coli*. *Food bioscience*, 11, 8-16.

Chaveerach, P., Keuzenkamp, D. A., Urlings, H. A., Lipman, L. J., & Van Knapen, F. (2002). In vitro study on the effect of organic acids on *Campylobacter jejuni/coli* populations in mixtures of water and feed. *Poultry science*, 81(5), 621-628.

Chen, X., Liu, Y., & Wu, J. (2020). Sustainable production of formic acid from biomass and carbon dioxide. *Molecular Catalysis*, 483, 110716.

Chorilli, M., Leonardi, G. R., & Salgado, H. R. N. (2007). Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. *Rev Bras Farm*, 88(3), 113-8.

Chowdhury, R., Islam, K. M. S., Khan, M. J., Karim, M. R., Haque, M. N., Khatun, M., & Pesti, G. M. (2009). Effect of citric acid, avilamycin, and their combination on the performance, tibia ash, and immune status of broilers. *Poultry science*, 88(8), 1616-1622.

Silva, N. C. D. (2020). Avaliação da vida-de-prateleira de rações para bovinos, aves e suínos.

Cunha, F. V. M., Nunes, L. C. C., Coêlho, A. G., & de Assis Oliveira, F. (2018). Fenilpropanóides: ferramentas para promoção da estabilidade genômica. *Boletim Informativo Geum*, 9(2), 10.

da Silva, L. A. S., de Oliveira, V. C., & Mendes, F. B. (2020). Principais aplicações dos resíduos da laranja e sua importância industrial. *Revista Artigos. Com*, 22, e5139-e5139.

Das, R. K., Brar, S. K., & Verma, M. (2016). Fumaric acid: production and application aspects. In Platform chemical biorefinery (pp. 133-157). Elsevier.

de Barros Fernandes, R. V., Marques, G. R., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2014). Effect of solids content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil. *Industrial Crops and Products*, 58, 173-181.

de Lima, F. B., Placedes, J., & Cardoso, C. R. (2019). Avaliação do rendimento de hidrodestilação para a produção de óleo essencial das cascas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação*, 4(3), 257-266.

Ding, J., He, S., Xiong, Y., Liu, D., Dai, S., & Hu, H. (2020). Effects of dietary supplementation of fumaric acid on growth performance, blood hematological and biochemical profile of broiler chickens exposed to chronic heat stress. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 22.

El Baaboua, A., El Maadoudi, M., Bouyahya, A., Belmehdi, O., Kounnoun, A., Zahli, R., & Abrini, J. (2018). Evaluation of antimicrobial activity of four organic acids used in chicks feed to control *Salmonella typhimurium*: Suggestion of amendment in the search standard. *International Journal of Microbiology*, 2018.

Engers, V. K., Behling, C. S., & Frizzo, M. N. (2011). A influência do estresse oxidativo no processo de envelhecimento celular. *Revista Contexto & Saúde*, 11(20), 93-102.

Erhan, M. K., & Bölükbaşı, Ş. C. (2017). Citrus peel oils supplementation in broiler diet: effects on performance, jejunum microflora and jejunum morphology. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19, 15-22.

Everton, G. O., Rosa, P. V. S., Neves, S. C., Pereira, A. P. M., Lima, E. C. S., Mendonça, I. P., ... & Mouchrek Filho, V. E. (2020). Caracterização química, atividade antimicrobiana e toxicidade dos óleos essenciais da *Pimenta dioica* L. e *Citrus sinensis* L. Osbeck. *Research, Society and Development*, 9(7), e803974842-e803974842.

Fascina, V. B. (2011). Aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos em dietas de frangos de corte.

Ferrari, C. K. B. (1998). Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. *Revista de Nutrição*, 11(1), 3-14.

Ferreira, I. D. L. (2022). Atividade dos óleos essenciais carvacrol e timol no controle do biofilme dental e gengivite: uma revisão de literatura.

Fik, M., Hrnčár, C., Hejniš, D., Hanusová, E., & Bujko, J. (2020, May). The Effect of Citric Acid on Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chickens.

In International Scientific Symposium BIOENGINEERING OF ANIMAL RESOURCES 2020.

Florou-Paneri, P., Giannenas, I., Christaki, E., Govaris, A., & Botsoglou, N. (2006). Performance of chickens and oxidative stability of the produced meat as affected by feed supplementation with oregano, vitamin C, vitamin E and their combinations. *Archiv fur Geflugelkunde*, 70(5), 232-239.

Frassinetti, S., Caltavuturo, L., Cini, M., Della Croce, C. M., & Maserti, B. E. (2011). Antibacterial and antioxidant activity of essential oils from Citrus spp. *Journal of Essential Oil Research*, 23(1), 27-31.

Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M. D., & Madrid, J. (2007). Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of applied poultry research*, 16(4), 555-562.

Ghazalah, A. A., Atta, A. M., Elkloub, K., Moustafa, M. E., & Shata, R. F. (2011). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, nutrients digestibility and health of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*.

Gole, M., Manwar, S. J., Chaudhary, S. P., Kawitkar, S. V., & Khose, K. K. (2020). The impact of feeding clove essential oils and organic acids on immunity, gut health and economics of broiler production. *J. Pharmacogn. Phytochem*, 9, 1417-1422.

Gordon, M. H. (1990). The mechanism of antioxidant action in vitro. In *Food antioxidants* (pp. 1-18). Springer, Dordrecht.

Hajati, H. (2018). Application of organic acids in poultry nutrition. *Int. J. Avian Wildl. Biol*, 3, 324-329.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/laranja/br>), março 2022.

Ibrahim, D., Abdelfattah-Hassan, A., Badawi, M., Ismail, T. A., Bendary, M. M., Abdelaziz, A. M., ... & El-Hamid, M. I. A. (2021). Thymol nanoemulsion promoted broiler chicken's growth, gastrointestinal barrier and bacterial community and conferred protection against Salmonella Typhimurium. *Scientific reports*, 11(1), 1-20.

Islam, K. M. S., Schuhmacher, A., Aupperle, H., & Gropp, J. M. (2008). Fumaric acid in broiler nutrition: a dose titration study and safety aspects. *Int. J. Poult. Sci*, 7(9), 903-907.

Jakiemiu, E. A. R., de Paula Scheer, A., de Oliveira, J. S., Côcco, L. C., Yamamoto, C. I., & Deschamps, C. (2010). Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). *Semina: Ciências Agrárias*, 31(3), 683-688.

Kelly, C., Gundogdu, O., Pircalabioru, G., Cean, A., Scates, P., Linton, M., ... & Corcionivoschi, N. (2017). The in vitro and in vivo effect of carvacrol in preventing *Campylobacter* infection, colonization and in improving productivity of chicken broilers. *Foodborne pathogens and disease*, 14(6), 341-349.

Kiyima, Z., Küçükyılmaz, K., Çetinkaya, M., Ateş, A., Atalay, H., Akdağ, A., ... & Gürsel, F. E. (2017). Effect of lavender (*Lavandula Stoechas*) essential oil on growth performance, carcass characteristics, meat quality and antioxidant status of broilers. *South African Journal of Animal Science*, 47(2), 178-186.

Khosravinia, H., Nourmohammadi, R., & Afzali, N. (2015). Productive performance, gut morphometry, and nutrient digestibility of broiler chicken in response to low and high dietary levels of citric acid. *Journal of Applied Poultry Research*, 24(4), 470-480.

Lauridsen, C., Buckley, D. J., & Morrissey, P. A. (1997). Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on α -tocopherol levels and fatty acid profiles in chicken muscle membranous fractions and on susceptibility to lipid peroxidation. *Meat Science*, 46(1), 9-22.

Lee, J. W., Kim, D. H., Kim, Y. B., Jeong, S. B., Oh, S. T., Cho, S. Y., & Lee, K. W. (2020). Dietary encapsulated essential oils improve production performance of coccidiosis-vaccine-challenged broiler chickens. *Animals*, 10(3), 481.

Lima, M. M. D. (2016). Ácidos orgânicos em dietas de suínos.

Lima, R. K., & Cardoso, M. G. (2013). Família Lamiaceae: importantes óleos essenciais com ação biológica e antioxidante.

Lorenz, J. G. (2012). Comparação dos métodos de emulsificação e spray drying na microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* (La-5) e aplicação em sorvete.

Lu, Y., & Wu, C. (2010). Reduction of *Salmonella enterica* contamination on grape tomatoes by washing with thyme oil, thymol, and carvacrol as compared with chlorine treatment. *Journal of Food Protection*, 73(12), 2270-2275.

Luna, A., Labaque, M. C., Zygadlo, J. A., & Marin, R. H. (2010). Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Poultry Science*, 89(2), 366-370.

Malkar, R. S., & Yadav, G. D. (2017). Selectivity engineering in synthesis of thymol using sulfated ZrO₂-TiO₂. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 56(30), 8437-8447.

Menconi, A., Shivaramaiah, S., Huff, G. R., Prado, O., Morales, J. E., Pumford, N. R., ... & Tellez, G. (2013). Effect of different concentrations of acetic, citric, and propionic acid dipping solutions on bacterial contamination of raw chicken skin. *Poultry Science*, 92(8), 2216-2220.

Moleyar, V., & Narasimham, P. (1992). Antibacterial activity of essential oil components. *International journal of food microbiology*, 16(4), 337-342.

Mortada, M., Cosby, D. E., Shanmugasundaram, R., & Selvaraj, R. K. (2020). In vivo and in vitro assessment of commercial probiotic and organic acid feed additives in broilers challenged with *Campylobacter coli*. *Journal of Applied Poultry Research*, 29(2), 435-446.

östling, C. E., & Lindgren, S. E. (1993). Inhibition of enterobacteria and *Listeria* growth by lactic, acetic and formic acids. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(1), 18-24.

Pauletti, G. F., & Silvestre, W. P. (2018). 15. Óleo essencial cítrico: produção, composição e fracionamento.

Peh, E., Kittler, S., Reich, F., & Kehrenberg, C. (2020). Antimicrobial activity of organic acids against *Campylobacter* spp. and development of combinations—A synergistic effect?. *Plos one*, 15(9), e0239312.

Pereira, C. P. (2015). Digestibilidade in vitro de micropartículas lipídicas sólidas contendo óleo de babaçu e determinação de bioacessibilidade de quercetina encapsulada (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Prieto, J. M., Iacopini, P., Cioni, P., & Chericoni, S. (2007). In vitro activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry*, 104(3), 889-895.

Ragaa, N. M., & Korany, R. M. (2016). Studying the effect of formic acid and potassium diformate on performance, immunity and gut health of broiler chickens. *Animal Nutrition*, 2(4), 296-302.

Ramos, J. S. (2021). Ácidos orgânicos como promotores de crescimento na dieta de frangos.

Rezzadori, K., & Benedetti, S. (2009, May). Proposições para valorização de resíduos do processamento do suco de laranja. In *International Workshop Advances in Cleaner Production* (pp. 1-11). São Paulo: UNIP.

Rivas, L., McDonnell, M. J., Burgess, C. M., O'Brien, M., Navarro-Villa, A., Fanning, S., & Duffy, G. (2010). Inhibition of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol. *International journal of food microbiology*, 139(1-2), 70-78.

Saccol, E. M. H. (2013). Adição do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) NE Brown na dieta do jundiá: análise do crescimento e da resposta antioxidante.

Saadat Shad, H., Mazhari, M., Esmaeilipour, O., & Khosravinia, H. (2016). Effects of thymol and carvacrol on productive performance, antioxidant enzyme activity and certain blood metabolites in heat stressed broilers. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(1), 195-202.

Santurio, J. M., Santurio, D. F., Pozzatti, P., Moraes, C., Franchin, P. R., & Alves, S. H. (2007). Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. *Ciência Rural*, 37, 803-808.

Scicutella, F., Mannelli, F., Daghighi, M., Viti, C., & Buccioni, A. (2021). Polyphenols and organic acids as alternatives to antimicrobials in poultry rearing: A review. *Antibiotics*, 10(8), 1010.

Silva, K. S. D. (2021). Composição química, avaliação antidepressiva e antioxidante do óleo essencial de *Citrus sinensis* (laranja doce).

Silveira, S. M. D. (2012). Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos vegetais e óleos essenciais e aplicação do óleo essencial de louro (*L. nobilis*) como agente conservador natural em embutido cárneo frescal.

Simeoni, C. P., de Araújo Etchepare, M., de Menezes, C. R., Fries, L. M., Menezes, M. F. C., & Stefanello, F. S. (2014). Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, 66-75.

Soares, J. C., Rosalen, P. L., Lazarini, J. G., Massarioli, A. P., da Silva, C. F., Nani, B. D., ... & de Alencar, S. M. (2019). Comprehensive characterization of bioactive phenols from new Brazilian superfruits by LC-ESI-QTOF-MS, and their ROS and RNS scavenging effects and anti-inflammatory activity. *Food chemistry*, 281, 178-188.

Soccol, C. R., Vandenberghe, L. P., Rodrigues, C., & Pandey, A. (2006). New perspectives for citric acid production and application. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 141-149.

Souza, A. A., Dias, N. A. A., Piccoli, R. H., & Bertolucci, S. K. V. (2016). Composição química e concentração mínima bactericida de dezesseis óleos essenciais sobre *Escherichia coli* enterotoxigênica. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 18, 105-112.

Souza, C. S., Vieites, F. M., Justino, L. R., Lima, M. F. D., Chaves, A. S., Minafra, C. S., & Lima, C. A. R. D. (2021). Orange essential oil in the diet of broilers: performance, organ biometrics, bone characteristics, and intestinal morphometry. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 50.

Souza, L. R. D. (2018). Avaliação da oxidação lipídica da carne de frango refrigerada e pós cocção acometida pela anomalia white striping (Bachelor's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná).

Stefanello, C., Rosa, D. P., Dalmoro, Y. K., Segatto, A. L., Vieira, M. S., Moraes, M. L., & Santin, E. (2020). Protected *blend* of organic acids and essential oils improves growth performance, nutrient digestibility, and intestinal health of broiler

chickens undergoing an intestinal challenge. *Frontiers in Veterinary Science*, 491.

Sultan, A., Ullah, T., Khan, S., & Khan, R. U. (2015). Effect of organic acid supplementation on the performance and ileal microflora of broiler during finishing period. *Pakistan Journal of Zoology*, 47(3).

Tokam Kuaté, C. R., Bisso Ndezo, B., & Dzoyem, J. P. (2021). Synergistic Antibiofilm Effect of Thymol and Piperine in Combination with Aminoglycosides Antibiotics against Four *Salmonella enterica* Serovars. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.

Valdevite, L. M. (2007). Estudo do efeito 'in vitro' de extrato das folhas e do óleo-resina de copaíba sobre fatores de virulência de '*Streptococcus mutans*', relacionados à cárie dental (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Zhang, S., Shen, Y. R., Wu, S., Xiao, Y. Q., He, Q., & Shi, S. R. (2019). The dietary combination of essential oils and organic acids reduces *Salmonella enteritidis* in challenged chicks. *Poultry Science*, 98(12), 6349-6355.

Zhou, F., Ji, B., Zhang, H., Jiang, H. U. I., Yang, Z., Li, J., ... & Yan, W. (2007). The antibacterial effect of cinnamaldehyde, thymol, carvacrol and their combinations against the foodborne pathogen *Salmonella typhimurium*. *Journal of food safety*, 27(2), 124-133.

WHO World Health Organization (<https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/>), março 2022.

WOW World O Meters (<https://www.worldometers.info/world-population/>), março 2022.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a participação de uma combinação de ácidos orgânicos e óleos essenciais microencapsulados sobre o desempenho zootécnico, rendimento de carcaça de frangos de corte, a qualidade da carne *in natura* e congelada e a avaliação do sistema redox da mucosa intestinal de frangos de corte

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da suplementação de uma combinação de ácidos orgânicos e óleos essenciais microencapsulados sobre o desempenho zootécnico, rendimento de carcaça e cortes comerciais de frangos de corte.

Avaliar o efeito da suplementação de uma combinação de ácidos orgânicos e óleos essenciais sobre a capacidade antioxidante sérica; estabilidade oxidativa antes e após o congelamento da carne; ocorrência de *White Striping* e *Wooden Breast*; propriedades tecnológicas e qualidade de carne; e efeito antioxidante intestinal.

CAPÍTULO 1 – ASSOCIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS BIOATIVOS MICROENCAPSULADOS SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E RENDIMENTO DE CARÇA DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Os ácidos orgânicos (AO) e óleos essenciais (OE) têm sido usados como alternativas aos antibióticos promotores do crescimento na produção animal para melhorar os parâmetros de desempenho e das características de qualidade de carça. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antioxidante de um *blend* de AO e OE contendo formiato de cálcio, ácido cítrico, ácido fumárico, óleo essencial de laranja (*Citrus sinenses*), timol e carvacrol sobre o desempenho zootécnico e rendimento de carça de frangos de corte. Foram utilizados 2016 pintos de corte distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos, oito repetições e 42 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por: T1 - ração basal (controle negativo); T2 - ração basal acrescida de bacitracina de zinco 15% (controle positivo); T3 - ração basal acrescida de 150g/t do *blend* de AO e OE; T4 - ração basal acrescida de 300g/t do *blend* de AO e OE; T5 - ração basal acrescida de 450g/t do *blend* de AO e OE; e T6 - ração basal acrescida de 600g/t do *blend* de AO e OE. O consumo de ração, peso vivo e ganho de peso foram avaliados semanalmente. O rendimento de carça e de cortes comerciais foi realizado aos 43 dias de idade, utilizando-se 40 aves por tratamento. A suplementação dietética com antibiótico promotor de crescimento resultou em melhores índices de desempenho produtivo e rendimento de carça. A avaliação dos parâmetros zootécnicos apresentou melhores resultados do *blend* de AO e OE na dosagem de 300 g/t, enquanto que para parâmetros de rendimento de carça a dosagem de 450 g/t se mostrou mais eficiente.

Palavras-chave: índices zootécnicos; compostos bioativos; efeito sinérgico

CHAPTER 1 - ASSOCIATION OF MICROENCAPSULATED ORGANIC ACIDS AND BIOACTIVE COMPOUNDS ON THE ZOOTECHNICAL PERFORMANCE AND CARCASS YIELD OF BROILERS

ABSTRACT

The organic acids (OA) and essential oils (EO) have been used as alternatives to growth promoting antibiotics in animal production to improve performance parameters and carcass quality characteristics. The objective of this study was to evaluate the antioxidant effect of a blend of OA and EO containing calcium formate, citric acid, fumaric acid, orange essential oil (*Citrus sinenses*), thymol and carvacrol on zootechnical performance and carcass yield of broilers. A total of 2016 broilers were distributed in a completely randomized design, with six treatments, eight replications and 42 birds per experimental unit. The treatments consisted of: T1 - basal ration (negative control); T2 - basal diet plus 15% zinc bacitracin (positive control); T3 - basal ration plus 150g/t of OA and EO blend; T4 - basal ration plus 300g/t of OA and EO blend; T5 - basal ration plus 450g/t of OA and EO blend; and T6 - basal ration plus 600g/t of OA and EO blend. Feed consumption, live weight and weight gain were evaluated weekly. Carcass yield and commercial cuts were performed at 43 days of age, using 40 birds per treatment. Dietary supplementation with growth-promoting antibiotic resulted in better indexes of productive performance and carcass yield. The evaluation of the zootechnical parameters showed better results for the blend of OA and EO at the dosage of 300 g/t, while for carcass yield parameters the dosage of 450 g/t was more efficient.

Key words: zootechnical indices; bioactives compounds; synergistic effect

INTRODUÇÃO

A saúde intestinal das aves está correlacionada a associação de diversos fatores como balanço da microbiota, presença de patógenos entéricos, excesso de nutrientes, qualidade da água, manejo e biossegurança (Oviedo-Rondon et al., 2010). Entretanto, o desenvolvimento constante de resistência bacteriana frente aos antibióticos, até então utilizados para mitigar estes desafios, levou a União Europeia a proibir a utilização destes fármacos como melhoradores de desempenho na ração dos animais de produção, segundo o publicado no Regulamento CE Nº 1831/2003 (Huyghebaert et al., 2011).

A partir desta decisão, as indústrias de produção de proteína animal tiveram que se adaptar, buscando novas alternativas e práticas de gestão eficientes, desde o aumento no rigor de biossegurança nas granjas, monitoramento das linhagens genéticas, até a suplementação de ingredientes não convencionais nas dietas que as aves recebem (da Costa et al., 2011). Assim, aditivos naturais, como ácidos orgânicos e óleos essenciais, têm sido adotados como alternativas aos antibióticos por promoverem uma série de efeitos positivos sobre a saúde intestinal de frangos de corte, principalmente quando associados a programas de biossegurança (McKnight et al., 2019).

A utilização de ácidos orgânicos em dietas de frangos de corte tem por objetivo a inibição do crescimento de bactérias patogênicas e, consequentemente, a manutenção do equilíbrio da microbiota colonizadora do trato gastrointestinal. Além disso, através da modulação do pH do intestino, os ácidos orgânicos também melhoram a solubilidade, digestão e absorção dos nutrientes (Vinus e Tawatia, 2017).

Os óleos essenciais também apresentam ação antimicrobiana, a qual é atribuída a característica lipofílica destes compostos, que atuam sobre a membrana das bactérias alterando a estrutura química. Além disso, os óleos essenciais podem melhorar o processo de digestão dos animais devido ao estímulo de atividades enzimáticas da membrana intestinal e secreção dos sais biliares (Lee et al., 2004).

A utilização de aditivos contendo óleos essenciais em dietas de frangos de corte já é uma realidade adotada pela indústria de proteína animal, sendo alguns compostos como o timol, carvacrol, eugenol, vanilina e cinamaldeído,

frequentemente utilizados em produtos comerciais para promover a saúde intestinal dos animais (Aljazzar et al., 2022; Ibrahim et al., 2021). Entretanto, novas associações entre princípios ativos devem ser avaliadas buscando maximizar a eficiência desta tecnologia sobre o desempenho zootécnico e características de carcaça.

Além de alternativas, outros aspectos importantes em relação a disponibilidade da matéria prima para a produção desses aditivos devem ser explorados como a utilização de matérias primas típicas da região onde as fábricas de aditivos estão localizadas, o que pode ser um diferencial competitivo para estas indústrias.

O Brasil é reconhecido internacionalmente por ser um grande produtor de laranja, o que fomenta a produção de derivados desta fruta, como o óleo essencial de laranja, o qual é constituído por aproximadamente 98% de R-limoneno sendo os 2% restantes referentes a uma mistura de outros terpenos e aldeídos alifáticos (Araujo et al., 2020). Segundo Heberle et al. (2016), óleos essenciais do gênero *Citrus*, que inclui importantes frutos, como laranjas, tangerinas, limas e limão, são conhecidos por apresentar importante efeito antimicrobiano contra bactérias e fungos. Esta atividade antimicrobiana é atribuída principalmente a compostos como o citruleno e o limoneno, considerados majoritários nestes tipos de óleos e que possuem a capacidade de alterar a permeabilidade da célula microbiana, danificando as membranas citoplasmáticas, o que, conseqüentemente, resulta em morte celular.

Sahu et al. (2019) estudaram a influência dos óleos essenciais presentes na casca de laranja e limão adicionados a dieta de frangos de corte (200mg/kg) e atestaram o efeito positivo sobre o ganho de peso e a conversão alimentar. Além disso, a combinação sinérgica das fontes de limoneno reduziu significativamente a contagem de *E. coli* presente no ceco das aves.

Assim, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a influência de ácidos orgânicos e óleos essenciais microencapsulados sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e instalações

O experimento foi realizado no Aviário Experimental da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. Todos os procedimentos conduzidos com os animais e de coleta de material biológico foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais em Experimentação (Protocolo nº 16/2021).

Foram utilizados 2016 pintos de corte, machos da linhagem Cobb 500, provenientes de matrizes de um mesmo lote com 40 semanas de idade. As aves foram distribuídas aleatoriamente em um delineamento inteiramente casualizado com 6 tratamentos, e 8 repetições, com 42 aves por unidade experimental.

Os tratamentos foram constituídos por:

T1 Controle negativo (CN) - Ração basal

T2 Controle Positivo (CP) - Ração basal + Bacitracina de Zinco 15% (55ppm)

T3 - Ração basal + 150g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais

T4 - Ração basal + 300g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais

T5 - Ração basal + 450g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais

T6 - Ração basal + 600g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais

O *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais microencapsulados consistiu de uma combinação entre formiato de cálcio, ácido cítrico, ácido fumárico, óleo essencial de laranja (*Citrus sinenses*), timol e carvacrol. A Bacitracina de Zinco foi utilizada como antibiótico promotor do crescimento (controle positivo).

Os boxes experimentais têm a dimensão de 2,0 X 1,80, totalizando 3,60 m² de área disponível (descontado o espaço do balde). A temperatura ambiental foi mantida dentro da faixa de conforto térmico por meio de campânulas providas de lâmpadas de aquecimento infravermelho, ventiladores, exaustores e placas de resfriamento controlados por um sistema automatizado. A cama utilizada foi de maravalha nova.

O programa vacinal foi realizado no incubatório (Marek, Gumboro e Bronquite) e não foram repetidas estas vacinações no campo.

Manejo e programa de alimentação

As aves foram alojadas e receberam água de qualidade e alimento *ad libitum* durante todo o período experimental de 42 dias. Nos primeiros 4 dias, a água foi oferecida em bebedouros infantis e a partir do 5º dia de idade, por meio de bebedouro *nipple*.

As aves até os 14 dias de idade receberam 24 horas de luz, em função do sistema de aquecimento (lâmpada halógena de 300W). Após este período receberam 16 horas de luz e 8 horas de escuro diariamente até 21 dias de idade e posteriormente 14 horas de luz e 10 horas de escuro até o final do experimento.

As rações experimentais foram fareladas, a base de milho e farelo de soja e formuladas visando atender as exigências nutricionais das diferentes fases. Independentemente do tratamento, todas as rações foram isonutritivas e foram formuladas com 500 FTU/kg de fitase utilizando a seguinte matriz nutricional: 0,12% de P de Ca.

O programa nutricional do teste foi dividido em 3 fases: inicial (1 a 21 dias), crescimento (22 – 35 dias idade) e abate (36 – 42 dias de idade) e estão descritas na Tabela 1.

Desempenho zootécnico

O consumo de ração, peso vivo e ganho de peso foram avaliados semanalmente com a pesagem das aves e das sobras de ração por repetição. A mortalidade foi registrada diariamente, possibilitando o cálculo de viabilidade e a conversão alimentar foi determinada considerando o peso das aves mortas.

Tabela 1 – Composição nutricional das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	Inicial	Crescimento	Final
	(1-21 dias)	(22-35 dias)	(36-45 dias)
Milho	52,380	56,331	62,639
Farelo de soja	40,945	36,812	30,854
Óleo de soja	2,991	3,518	3,600
Calcário	1,069	0,951	0,838
Fosfato bicálcico	1,035	0,866	0,528
Sal comum	0,323	0,306	0,289
Bicarbonato de sódio	0,294	0,290	0,278
L-Lisina	0,194	0,211	0,236
DL-Metionina	0,380	0,344	0,293
L-Treonina	0,044	0,038	0,028
Cloreto de colina	0,085	0,073	0,057
Premix vitamínico e mineral ^{1, 2, 3}	0,200	0,200	0,300
Caulim ⁴	0,060	0,060	0,060
Valores calculados			
EM (Kcal/Kg)	3.030	3.109	3.184
Proteína Bruta (%)	23,59	21,967	19,669
Cálcio (%)	0,903	0,808	0,674
Fósforo disponível (%)	0,431	0,393	0,321
Sódio (%)	0,220	0,212	0,201
Cloro (%)	0,270	0,260	0,250
Potássio (%)	0,919	0,855	0,766
Na+K+Cl (meq/100g)	255	238	213
Lisina Dig. (%)	1,270	1,179	1,050
Metionina Dig. (%)	0,688	0,635	0,560
Met + Cis Dig. (%)	1,003	0,931	0,829
Triptofano Dig. (%)	0,273	0,251	0,220
Treonina Dig. (%)	0,838	0,778	0,693
Arginina Dig. (%)	1,480	1,362	1,194
Leucina Dig. (%)	1,786	1,690	1,557
Isoleucina Dig. (%)	0,916	0,846	0,746
Valina Dig. (%)	0,977	0,907	0,808

¹ Premix Inicial (Conteúdo por kg de premix): Vitamina A (mín.) 4.000.000UI/kg, vitamina D3 (mín.) 1.000.000UI/kg, vitamina E (mín.) 7.500UI/kg, vitamina K3 (mín.) 750mg/kg, vitamina B1 (mín.) 900mg/kg, vitamina B2 (mín.) 2.500mg/kg, vitamina B6 (mín.) 1.200mg/kg, vitamina B12 (mín.) 5.000mcg/kg, niacina (mín.) 13,50g/kg, ácido pantotênico (mín.) 4.500mg/kg, ácido fólico (mín.) 400mg/kg, biotina (mín.) 20mg/kg, colina (mín.) 150g/kg, manganês (mín.) 35g/kg, zinco (mín.) 30g/kg, ferro (mín.) 25g/kg, cobre (mín.) 4.000mg/kg, iodo (mín.) 400mg/kg, selênio (mín.) 150mg/kg, BHT (mín.) 270mg/kg, fitase (mín.) 250U/g.

² Premix crescimento (Conteúdo por kg de premix): Vitamina A (mín.) 3.200.000UI/kg, vitamina D3 (mín.) 800.000UI/kg, vitamina E (mín.) 6.000UI/kg, vitamina K3 (mín.) 600mg/kg, vitamina B1 (mín.) 720mg/kg, vitamina B2 (mín.) 2.000mg/kg, vitamina B6 (mín.) 960mg/kg, vitamina B12

(mín.) 4.000mcg/kg, niacina (mín.) 10,80g/kg, ácido pantotênico (mín.) 3.600mg/kg, ácido fólico (mín.) 320mg/kg, biotina (mín.) 16mg/kg, colina (mín.) 100g/kg, manganês (mín.) 35g/kg, zinco (mín.) 30g/kg, ferro (mín.) 25g/kg, cobre (mín.) 4.000mg/kg, iodo (mín.) 400mg/kg, selênio (mín.) 150mg/kg, BHT (mín.) 270mg/kg, fitase (mín.) 250U/g.

³ Premix final (Conteúdo por kg de premix): Vitamina A (mín.) 1.067.000UI/kg, vitamina D3 (mín.) 266.700UI/kg, vitamina E (mín.) 2.000UI/kg, vitamina K3 (mín.) 200mg/kg, vitamina B1 (mín.) 240mg/kg, vitamina B2 (mín.) 666mg/kg, vitamina B6 (mín.) 320mg/kg, vitamina B12 (mín.) 1.333mcg/kg, niacina (mín.) 3.600mg/kg, ácido pantotênico (mín.) 1.200mg/kg, ácido fólico (mín.) 106mg/kg, biotina (mín.) 5,33mg/kg, colina (mín.) 35g/kg, manganês (mín.) 23,30g/kg, zinco (mín.) 20g/kg, ferro (mín.) 16,67g/kg, cobre (mín.) 2.667mg/kg, iodo (mín.) 266mg/kg, selênio (mín.) 100mg/kg, fitase (mín.) 166,66U/g.

⁴ O caulim foi substituído pela adição de Bacitracina de Zinco ou pelo *Blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais de acordo com o tratamento experimental.

Rendimento de carcaça e de cortes comerciais

O rendimento de carcaça, peito, pernas, asas e gordura abdominal foi realizado aos 43 dias de idade, utilizando-se 5 aves/unidade experimental (40 aves por tratamento), com peso vivo variando entre -2% a +2% da média de peso do box. Previamente as aves foram identificadas e submetidas ao jejum alimentar durante 6 horas. Após, foram insensibilizadas por eletrochoque e abatidas por sangria mediante corte da veia jugular. Posteriormente, as aves foram escaldadas, depenadas e evisceradas de acordo com regulamento técnico de manejo pré-abate e abate humanitário e os métodos de insensibilização autorizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Portaria nº 365, de 16 de julho de 2021 do MAPA).

Para o cálculo de rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada quente, sem os pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo que foi obtido individualmente antes do abate das aves. Para o rendimento dos cortes comerciais, foi considerado o rendimento do peito inteiro com pele e ossos, das pernas (coxa e sobrecoxa com ossos e pele), dorso e asas com pele, e calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada. A gordura abdominal presente ao redor da cloaca, da bolsa cloacal, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes foi retirada conforme descrito por Smith (1993), em seguida, foi pesada e também calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

Análise estatística

Para as análises estatísticas foi utilizado o software IBM SPSS (SPSS Inc., Chicago, USA, versão 26). Os dados foram submetidos a análise de normalidade, homogeneidade e posteriormente foram submetidos a análise de variância utilizando o modelo linear generalizado (ANOVA). O teste de Tukey foi utilizado para comparação entre médias. Os dados relacionados a dieta controle negativo e aos níveis de suplementação do *blend* de aditivos (B150, B300, B450 e B600g/t) foram submetidos à análise de regressão até segunda ordem (quadrática).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desempenho produtivo semanal (Tabela 2) dos frangos de corte alimentados com dietas acrescidas de antibiótico promotor de crescimento (APC) foi superior ($p < 0,05$) em relação às dietas contendo um *blend* composto por ácidos orgânicos e óleos essenciais. Entretanto, na primeira e na última semana de vida, o uso do *blend* na dosagem de 300g/t resultou no mesmo peso vivo obtido com dietas acrescidas de APC ($p < 0,05$).

Houve efeito linear decrescente ($p < 0,051$) para conversão alimentar considerando a dieta basal e os níveis de suplementação do aditivo. A suplementação do aditivo melhorou a conversão alimentar dos frangos de corte na última semana de vida das aves em relação ao tratamento controle negativo.

Na avaliação por fases (Tabela 3), os resultados foram similares aos observados semanalmente, mostrando melhor desempenho para a dieta acrescida de APC e resultados intermediários para os demais tratamentos.

De 1 a 21 dias, observou-se comportamento linear decrescente ($p < 0,05$) do consumo de ração em relação a adição do *blend*, sem efeito sobre o ganho de peso ou conversão alimentar (Tabela 3).

Esses resultados podem ser explicados pelo estresse oxidativo que as aves estão susceptíveis principalmente na primeira e na última semana de vida, levando a formação de produtos como espécies reativas de oxigênio (ROS), resultantes dos processos da oxidação específicos de cada uma destas fases.

Na primeira semana pós-eclosão, o sistema imune das aves se encontra imaturo e o trato gastrointestinal, apesar de estar anatomicamente completo, possui capacidade funcional limitada, o que pode afetar a digestão e absorção de nutrientes (Gonçalves, 2009; Gomes, 2021). Além disso, as aves estão particularmente sensíveis a fatores ambientais associados à temperatura, especialmente ao calor (de Oliveira, 2019). Na última semana, os desafios sanitários causados por agentes infecciosos, concentração de amônia, aumento da densidade e estresse calórico podem contribuir para quadros de estresse oxidativo (Roll et al., 2010)

Assim, nas fases em que as aves enfrentam maiores fatores críticos de estresse e que podem levar a formação de espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio e o radical superóxido, a suplementação com o *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais na dosagem de 300 g/t pode ter contribuído para minimizar os efeitos deletérios da oxidação, levando as aves a apresentarem o mesmo peso vivo das dietas acrescidas com APC.

Ertas et al. (2005), observaram maior de ganho de peso quando as aves consumiram 200 ppm de um *mix* de óleos essenciais à base de orégano, cravo e anis. Fotea et al. (2010) ao avaliarem a suplementação de três níveis (0,3%; 0,7%; e 1%) de óleo de orégano adicionado à ração de frangos de corte observaram que a suplementação do óleo melhorou o peso vivo das aves em todos os tratamentos em relação ao controle negativo.

A melhoria dos índices zootécnicos de animais que recebem dietas suplementadas com a combinação de ácidos orgânicos e óleos essenciais pode ser explicada devido aos seus mecanismos de ação, responsáveis por modular a microbiota intestinal através da seleção de bactérias benéficas que colonizam o trato intestinal (Pham et al. 2020).

No caso dos ácidos orgânicos, quando estes acessam o interior da célula bacteriana, se dissociam doando íons H^+ , o que leva a uma redução de pH e acúmulo desta carga, forçando a célula bacteriana a gastar toda a sua energia para expulsar os íons H^+ e assim tentar reequilibrar o gradiente de concentração (Lippens et al., 2006). Já em relação aos óleos essenciais, o mecanismo de ação é explicado devido às suas características lipofílicas, responsáveis por causar perturbação da membrana citoplasmática, danos nas proteínas da membrana, coagulação do citoplasma, alteração no fluxo de elétrons, interrupção da força

próton motriz, alteração do transporte ativo e redução do pool de ATP intracelular (Souza et al., 2016).

Zhang et al. (2005) concluíram que a adição de um *blend* de óleos essenciais (orégano, canela, tomilho e pimentão) ou de ácidos orgânicos (fumárico, cítrico e málico) não apresentou diferenças o peso de frangos de corte, entretanto, foi observado melhor conversão alimentar. Denli et al. (2003) avaliaram o efeito da suplementação de ácidos orgânicos e um antibiótico (flavomicina) na ração de frangos de corte e concluíram que o grupo que recebeu o antibiótico apresentou maior ganho de peso, consumo de ração, peso de carcaça e melhor eficiência alimentar do que o controle e os demais tratamentos.

Tabela 2 – Desempenho produtivo semanal de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend (B) de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	Tratamentos					P - valor		
	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA L Q
1 a 7 dias								
Peso vivo, g	176,67b	186,15a	177,46b	180,00ab	174,26b	180,27ab	3,50	0,004 0,434 0,399
Ganho de peso, g	133,92ab	143,16a	134,53b	136,93ab	130,86b	135,67ab	5,00	0,004 0,423 0,386
Consumo de ração, g	155,52	152,65	152,51	158,63	152,09	151,49	6,10	0,732 0,912 0,983
Conversão alimentar	1,162	1,066	1,134	1,159	1,164	1,118	6,20	0,058 0,521 0,499
7 a 14 dias								
Peso vivo, g	472,94b	527,03a	459,42b	465,31b	450,43b	466,97b	7,00	<0,001 0,604 0,168
Ganho de peso, g	292,86b	338,38a	280,91b	283,32b	275,43b	288,50b	9,70	<0,001 0,640 0,249
Consumo de ração, g	384,26b	415,57a	382,46b	377,67b	366,77b	370,27b	6,30	<0,001 0,224 0,351
Conversão alimentar	1,317	1,232	1,366	1,333	1,313	1,285	6,20	0,175 0,594 0,359
14 a 21 dias								
Peso vivo, g	987,21b	1050,75a	952,91b	957,89b	945,40b	959,66b	5,10	<0,001 0,506 0,196
Ganho de peso, g	502,42	524,99	493,50	492,32	492,97	490,89	5,00	0,062 0,533 0,555
Consumo de ração, g	669,19ab	705,73a	663,42b	660,52ab	649,62b	643,70b	5,20	0,002 0,315 0,536
Conversão alimentar	1,333	1,351	1,312	1,319	1,318	1,312	2,80	0,405 0,593 0,723
21 a 28 dias								
Peso vivo, g	1513,85b	1617,19a	1502,13b	1518,82b	1499,62b	1500,46b	4,50	0,001 0,752 0,671
Ganho de peso, g	525,46	569,73	542,88	552,13	552,74	537,24	8,30	0,548 0,822 0,757
Consumo de ração, g	839,58	883,88	851,95	854,06	843,41	844,30	4,90	0,216 0,520 0,588
Conversão alimentar	1,598	1,558	1,575	1,553	1,530	1,581	5,60	0,526 0,604 0,186
28 a 35 dias								
Peso vivo, g	2269,70	2372,09	2242,90	2313,94	2270,66	2232,86	4,80	0,247 0,932 0,933
Ganho de peso, g	762,11	746,94	736,80	792,89	745,35	722,38	11,00	0,877 0,858 0,596
Consumo de ração, g	1480,15	1418,59	1389,58	1508,52	1473,70	1473,44	7,30	0,410 0,936 0,938
Conversão alimentar	1,963	1,931	1,914	1,911	1,948	2,059	11,70	0,992 0,909 0,766
35 a 42 dias								
Peso vivo, g	3080,74b	3246,48a	3105,27ab	3156,34ab	3117,31ab	3071,44b	3,70	0,017 0,921 0,868
Ganho de peso, g	791,63	859,69	819,59	824,72	830,47	830,73	6,90	0,338 0,501 0,791
Consumo de ração, g	1404,25	1443,53	1409,34	1412,15	1400,66	1383,05	4,80	0,721 0,262 0,490
Conversão alimentar	1,785	1,685	1,699	1,715	1,687	1,666	5,90	0,436 0,051 ¹ 0,135

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = Blend 150 g/t; B300 = Blend 300 g/t; B450 = Blend 450 g/t; B600 = Blend 600 g/t; ¹ $\bar{Y} = 1,760 - 0,000167x$ ($R^2 = 0,13$); a, b: indicam diferença estatística na mesma linha ($P \leq 0,05$).

Tabela 3 – Desempenho produtivo por fase de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend (B) de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	Tratamentos						P - valor			
	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA	L	Q
1 a 14 dias										
Consumo de ração, g	539,78ab	568,23a	534,96b	536,11ab	512,62b	521,761b	5,10	<0,001	0,057	0,159
Ganho de peso, g	426,78b	481,55a	415,44b	420,26b	406,29b	424,17b	7,70	<0,001	0,407	0,364
Conversão alimentar	1,267ab	1,182b	1,292a	1,271ab	1,264ab	1,231ab	5,60	0,024	0,340	0,318
1 a 21 dias										
Consumo de ração, g	1208,97ab	1268,86a	1198,38b	1196,82ab	1162,99b	1165,45b	4,70	<0,001	0,033 ¹	0,105
Ganho de peso, g	929,21ab	1000,60a	908,94b	913,35b	899,25b	915,06b	5,40	<0,001	0,148	0,273
Conversão alimentar	1,289	1,268	1,298	1,299	1,293	1,274	2,70	0,094	0,212	0,210
1 a 28 dias										
Consumo de ração, g	2048,55ab	2152,74a	2050,33b	2050,88ab	2005,47b	2009,76b	4,30	0,002	0,147	0,356
Ganho de peso, g	1454,66b	1570,33a	1451,81b	1473,77b	1452,00b	1452,31b	4,70	<0,001	0,589	0,842
Conversão alimentar	1,409	1,372	1,413	1,392	1,382	1,384	2,50	0,343	0,196	0,401
1 a 35 dias										
Consumo de ração, g	3528,71abc	3571,329a	3439,92c	3557,94ab	3479,17bc	3441,49c	2,40	<0,001	0,176	0,400
Ganho de peso, g	2216,77	2317,26	2188,62	2266,66	2210,53	2174,69	5,20	0,066	0,676	0,611
Conversão alimentar	1,595	1,545	1,576	1,572	1,575	1,604	4,70	0,718	0,819	0,704
1 a 42 dias										
Consumo de ração, g	4932,96ab	5014,86a	4881,63ab	4970,10ab	4879,84ab	4866,25b	2,50	0,017	0,100	0,210
Ganho de peso, g	3008,41ab	3176,95a	3041,64ab	3091,38ab	3041,00ab	3005,42b	3,90	0,028	0,867	0,372
Conversão alimentar	1,641	1,580	1,607	1,609	1,605	1,620	2,80	0,215	0,266	0,250
CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = Blend 150 g/t; B300 = Blend 300 g/t; B450 = Blend 450 g/t; B600 = Blend 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; 1 ^Y = 1208,264 – 0,086730x (R2 = 0,16); a, b, c: indicam diferença estatística na mesma linha (Ps0,05).										

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = Blend 150 g/t; B300 = Blend 300 g/t; B450 = Blend 450 g/t; B600 = Blend 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; ¹Y = 1208,264 – 0,086730x (R² = 0,16); a, b, c: indicam diferença estatística na mesma linha (P≤0,05).

Jang et al. (2007), mesmo não tendo observado efeito significativo sobre o ganho de peso e consumo de ração para um *blend* contendo timol, também não encontram resposta positiva para o tratamento positivo com antibiótico (colistina).

Khosravinia et al. (2015) demonstraram a influência do ácido cítrico como agente antibacteriano, promovendo o comprimento das vilosidades, profundidade de cripta e número de células caliciformes no duodeno, jejuno e íleo. Além disso, o efeito antioxidante citado por Fernandes et al. (2015) revelou a possibilidade de melhoria nos processos digestivos devido ao estímulo da atividade enzimática e de efeitos relacionados às alterações na histologia do epitélio intestinal.

Os maiores ($p < 0,05$) pesos de carcaça e de asas foram observados com as dietas suplementadas com APC e com o nível de 450g/t do *blend* e de peito com as dietas suplementadas com APC. Para o peso de pernas, observou-se o menor ($p < 0,05$) valor para a dieta com a suplementação máxima do aditivo (600g/t) em relação à dieta com APC e com 450g/t do *blend*. A deposição de gordura abdominal não foi influenciada ($p > 0,05$) por nenhuma das dietas experimentais.

O peso do peito e das asas apresentaram comportamento quadrático ($p < 0,05$) em relação ao uso da dieta controle e as dietas acrescidas do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais (Tabela 4).

A redução do estresse oxidativo promovida por esta dosagem pode ser uma das explicações para os resultados apresentados, uma vez que o estresse também é responsável por desencadear ações que promovem a proteólise. Assim, além de todos os efeitos da maior produção de ROS sobre o metabolismo, o estresse ainda é associado à menor expressão de IGF-I, uma proteína produzida no fígado em resposta ao hormônio do crescimento (GH) e, portanto, fundamental para a deposição proteica e o crescimento adequado. De acordo com Del Vesco (2014) o IGF-I possui um importante papel na taxa de crescimento corporal de aves e quanto menor o nível de IGF-I encontrado, pior será o crescimento corporal.

Os dados deste estudo corroboram com os resultados de Mashayekhi et al. (2018), o qual apresentou diferenças significativas para o peso de carcaça e de peito quando as aves consumiram dietas contendo virginamicina e 0,5% de

extrato de eucalipto. Já Salah et al. (2018), ao avaliarem a adição do sal de butirato de sódio na ração de frangos de corte concluíram que não houve efeito significativo em relação ao controle negativo para os parâmetros de carcaça, peito e gordura abdominal.

O rendimento de carcaça (Tabela 5) diferiu ($p < 0,05$) apenas entre os tratamentos contendo 300 g/t e 450 g/t, sendo que os demais foram iguais entre si. As dietas com APC e com 600 g/t resultaram no maior ($p < 0,05$) rendimento de peito em relação a dieta isenta de aditivo. Houve efeito linear crescente ($p = 0,015$), dos níveis de suplementação do *blend* sobre o rendimento de peito dos frangos de corte.

Zhao et al. (2021), não observaram diferença significativa para o rendimento de carcaça quando avaliaram a suplementação de óleo essencial de orégano na dieta de frangos de corte. Syed (2019) também não encontrou diferença significativa para o rendimento de carcaça ao testar dietas contendo um *blend* a base de menta, anis e cravo, e um antibiótico (bacitracina metileno disalicilato – BMD).

Não houve efeito significativo entre os tratamentos para o rendimento de pernas, o que corrobora os achados de Mountzouris et al. (2020), que não observaram diferença estatística ao avaliarem um *blend* contendo gengibre, limão, bálsamo, orégano e tomilho. Hernández-Coronado et al. (2019) também não constatarem resultados positivos sobre o rendimento de pernas quando os frangos receberam óleo essencial de orégano.

O rendimento de asas e gordura não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$), o que também foi observado por Borsatti et al. (2020) ao avaliarem a suplementação de um *blend* de óleos essenciais à base de orégano, anis e limão.

Tabela 4 – Peso (g) de carcaça e de cortes comerciais e deposição de gordura abdominal de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend (B) de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	Tratamentos						P - valor	
	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA L Q
Carcaça, g	2425,00c	2560,20a	2449,2bc	2450,45bc	2504,84ab	2431,69b	5,04	<0,001 0,266 0,157
Peito, g	920,38b	1020,36a	935,64b	940,46b	960,87b	951,00b	8,69	<0,001 0,019 ¹ 0,048
Pernas, g	766,36ab	788,11a	763,10ab	766,80ab	787,95a	755,60b	6,20	0,010 0,580 0,377
Asas, g	241,44b	249,70a	244,56ab	241,95ab	247,55a	238,05b	5,90	<0,001 0,653 0,037 ²
Gordura, g	37,39	38,03	39,39	36,06	36,38	34,96	33,60	0,862 0,226 0,464

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = Blend 150 g/t; B300 = Blend 300 g/t; B450 = Blend 450 g/t; B600 = Blend 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; $1\hat{Y} = 925,933 + 0,056x$ ($R^2 = 0,03$); $2\hat{Y} = 239,725 + 0,045x - 0,0000825x^2$ ($R^2 = 0,03$); a, b, c: indicam diferença estatística na mesma linha ($P \leq 0,05$).

Tabela 5 – Rendimento (%) de carcaça e de cortes comerciais e deposição de gordura abdominal de frangos de corte recebendo diferentes níveis do *blend* (B) de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	Tratamentos						P - valor	
	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA L Q
Carcaça, %	77,59ab	77,94ab	77,93ab	76,96b	78,31a	77,99ab	3,10	0,054 0,184 0,228
Peito, %	37,74b	39,31a	38,37ab	38,62ab	38,44ab	39,20a	6,00	0,032 0,015 ¹ 0,049
Perna, %	31,68	30,87	31,00	31,31	31,59	31,14	4,60	0,086 0,697 0,895
Asas, %	9,90	9,73	10,03	9,85	9,95	9,72	4,80	0,116 0,085 0,068
Gordura, %	1,50	1,48	1,62	1,47	1,46	1,45	33,4	0,701 0,170 0,390

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = Blend 150 g/t; B300 = Blend 300 g/t; B450 = Blend 450 g/t; B600 = Blend 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; $1\hat{Y} = 37,955 + 0,001636x$ ($R^2 = 0,03$); a, b: indicam diferença estatística na mesma linha ($P \leq 0,05$).

CONCLUSÃO

A suplementação dietética com antibiótico promotor de crescimento resultou nos melhores resultados de desempenho produtivo e rendimento de carcaça consistentes com os resultados já esperados para esses aditivos.

Os aditivos naturais, como ácidos orgânicos e óleos essenciais, podem ser utilizados em substituição aos antibióticos promotores de crescimento.

A avaliação dos parâmetros zootécnicos apresentou melhores resultados na dosagem de 300 g/t, enquanto que para parâmetros de rendimento de carcaça a dosagem de 450 g/t se mostrou mais eficiente.

A suplementação de ácidos orgânicos e óleos essenciais apresentam uma resposta zootécnica dose dependente, principalmente para determinados índices de rendimento de carcaça.

REFERÊNCIAS

- Aljazzar, A., Abd El-Hamid, M. I., El-Malt, R. M., El-Gharreb, W. R., Abdel-Raheem, S. M., Ibrahim, A. M., ... & Ibrahim, D. (2022). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *Campylobacter* Species with Particular Focus on the Growth Promoting, Immunostimulant and Anti-*Campylobacter jejuni* Activities of Eugenol and Trans-Cinnamaldehyde Mixture in Broiler Chickens. *Animals*, 12(7), 905.
- Araújo, R. J. P., dos Santos, A. B. D. S., Rosa, P. V. S., Junior, R. G. D. O. C., Teles, A. M., Gomes, P. R. B., & Mouchrek Filho, V. E. (2020). Caracterização química, atividade antimicrobiana e toxicidade dos óleos essenciais da Pimenta dioica L.(pimenta da Jamaica) e *Citrus sinensis* L. Osbeck (laranja doce). *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 49(3).
- Ariza Nieto, C., Ortiz, R. E., & Tellez, G. A. (2018). Effect of two chemotypes of oregano essential oil on broiler performance, nutrient balance, and lipid peroxidation of breast meat during storage. *Ciência Animal Brasileira*, 19.
- Borsatti, L., Broch, J., de Avila, A. S., Schneiders, J. L., Rocha, C. S., Oxford, J. H., & Nunes, R. V. (2020). Essential oils and prebiotic on broiler diets as feed additives. *Semina: Ciências Agrárias*, 41(4), 1307-1316.
- da Costa, P. M., Oliveira, M., Ramos, B., & Bernardo, F. (2011). The impact of antimicrobial use in broiler chickens on growth performance and on the occurrence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli*. *Livestock Science*, 136(2-3), 262-269.
- de Oliveira, R. G. (2019). Níveis de proteína e aminoácidos para frangos de corte em estresse térmico por calor.
- Del Vesco, A. P. (2014). Mecanismos moleculares relacionados à deposição protéica e ao estado redox de aves alimentadas com DL-metionina e submetidas ao estresse térmico.
- Denli, M., Okan, F., & Celik, K. (2003). Effect of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. *Pakistan Journal of Nutrition*.
- Ertas, O. N., Guler, T., Çiftçi, M., Dalkılıç, B., & Simsek, U. G. (2005). The effect of an essential oil mix derived from oregano, clove and anise on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*, 4(11), 879-884.
- Fernandes, R. T. V., de Arruda, A. M. V., de Moraes Oliveira, V. R., de Queiroz, J. P. A. F., da Silva Melo, A., Dias, F. K. D., ... & dos Santos Filho, C. A. (2015). Aditivos fitogenicos na alimentacao de frangos de corte: óleos essenciais e especiarias. *PubVet*, 9, 502-557.

Fotea, L., Costăchescu, E., Hoha, G., & Leonte, D. (2010). The effect of oregano essential oil (*Origanum vulgare* L) on broiler performance. *Lucrari stiintifice*, 53, 491-4.

Gomes, D. D. S. (2021). Avaliação da morfologia intestinal e contagem de células caliciformes em frangos de corte Cobb e Label Rouge recém-eclodidos.

Gonçalves, G. A. M. (2009). Utilização de bacteriófagos em associação com *Lactobacillus* no controle de *Salmonella enterica* subs. *enterica* sorotipo *typhimurium* antibiótico-resistente em frangos de corte (*Gallus gallus domesticus*-Linnaeus, 1758).

Heberle, T., Kringel, D. H., Dannenberg, G., Evangelho, J., de Oliveira, R. P., & Dias, A. R. G. (2016). Atividade antimicrobiana de óleo essencial de laranja. In Embrapa Clima Temperado-Artigo em anais de congresso (Alice). In: Congresso brasileiro de ciência e tecnologia de alimentos, 25.; CIGR Session 6 international technical symposium, 10., 2016, Gramado. Alimentação: árvore que sustenta a vida. Anais... Gramado: SBCTA Regional, 2016..

Hernández-Coronado, A. C., Silva-Vázquez, R., Rangel-Nava, Z. E., Hernández-Martínez, C. A., Kawas-Garza, J. R., Hume, M. E., & Méndez-Zamora, G. (2019). Mexican oregano essential oils given in drinking water on performance, carcass traits, and meat quality of broilers. *Poultry science*, 98(7), 3050-3058.

Hesabi Nameghi, A., Edalatian, O., & Bakhshalinejad, R. (2019). Effects of a blend of thyme, peppermint and eucalyptus essential oils on growth performance, serum lipid and hepatic enzyme indices, immune response and ileal morphology and microflora in broilers. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 103(5), 1388-1398.

Huyghebaert, G., Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2011). An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal*, 187(2), 182-188.

Ibrahim, D., Abdelfattah-Hassan, A., Badawi, M., Ismail, T. A., Bendary, M. M., Abdelaziz, A. M., ... & El-Hamid, M. I. A. (2021). Thymol nanoemulsion promoted broiler chicken's growth, gastrointestinal barrier and bacterial community and conferred protection against *Salmonella Typhimurium*. *Scientific reports*, 11(1), 1-20.

Jang, I. S., Ko, Y. H., Kang, S. Y., & Lee, C. Y. (2007). Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 134(3-4), 304-315.

Khosravinia, H., Nourmohammadi, R., & Afzali, N. (2015). Productive performance, gut morphometry, and nutrient digestibility of broiler chicken in response to low and high dietary levels of citric acid. *Journal of Applied Poultry Research*, 24(4), 470-480.

Lee, K. W., Everts, H., & Beynen, A. C. (2004). Essential oils in broiler nutrition. *International journal of poultry science*, 3(12), 738-752.

Lippens, M., Huyghebaert, G., & Scicutella, S. (2006). The efficacy of microencapsulated, gastro-resistant blends of essential oils and/or organic acids in broiler diets. In *European Poultry Conference* (Vol. 12, p. 359).

Mashayekhi, H., Mazhari, M., & Esmaeilipour, O. (2018). Eucalyptus leaves powder, antibiotic and probiotic addition to broiler diets: effect on growth performance, immune response, blood components and carcass traits. *Animal*, 12(10), 2049-2055.

McKnight, L. L., Peppler, W., Wright, D. C., Page, G., & Han, Y. (2019). A blend of fatty acids, organic acids, and phytochemicals induced changes in intestinal morphology and inflammatory gene expression in coccidiosis-vaccinated broiler chickens. *Poultry science*, 98(10), 4901-4908.

Mountzouris, K. C., Paraskeuas, V., Griela, E., Papadomichelakis, G., & Fegeros, K. (2019). Effects of phytogenic inclusion level on broiler carcass yield, meat antioxidant capacity, availability of dietary energy, and expression of intestinal genes relevant for nutrient absorptive and cell growth–protein synthesis metabolic functions. *Animal Production Science*, 60(2), 242-253.

Oviedo-Rondón, E. O., Hume, M. E., Barbosa, N. A., Sakomura, N. K., Weber, G., & Wilson, J. W. (2010). Ileal and caecal microbial populations in broilers given specific essential oil blends and probiotics in two consecutive grow-outs. *Avian Biology Research*, 3(4), 157-169.

Pham, V. H., Kan, L., Huang, J., Geng, Y., Zhen, W., Guo, Y., ... & Wang, Z. (2020). Dietary encapsulated essential oils and organic acids mixture improves gut health in broiler chickens challenged with necrotic enteritis. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11(1), 1-18.

Rewatkar, H. N., Vipin, K. K., & Pramod, K. S. Assessment of supplementation of oregano oil and probiotic on carcass yields of broiler chicken.

Roll, V. F. B., Lopes, L. L., Rossi, P., Anciuti, M. A., Rutz, F., Xavier, E. G., & Silva, S. S. (2010). Hematologia de frangos alimentados com dietas contendo aflatoxinas e adsorvente de toxinas. *Archivos de zootecnia*, 59(225), 93-101.

Sahu, A. C., Manwar, S. J., Gole, M. A., Khose, K. K., Wade, M. R., & Kuralkar, S. V. (2019). Effect of lemon and orange peel essential oils on performance of broiler chickens during summer. *Indian Journal of Poultry Science*, 54(2), 139-145.

Salah, A. S., El-Tarabany, M. S., & Ali, M. A. (2018). Impact of dietary supplementation with a synbiotic, organic acids or their combination on growth performance, carcass traits, economic efficiency, jejunum histomorphometry and some blood indices of broiler chickens. *Animal Production Science*, 59(7), 1318-1326.

Souza, A. A., Dias, N. A. A., Piccoli, R. H., & Bertolucci, S. K. V. (2016). Composição química e concentração mínima bactericida de dezesseis óleos essenciais sobre *Escherichia coli* enterotoxigênica. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 18, 105-112.

Syed, B. (2019). Evaluation of the Influence of a Phytogenic Feed Additive on Carcass Traits in Broilers Compared to an Antibiotic Growth Promoter. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 12(11), 8-12.

Vinus, N. S., & Tewatia, B. S. (2017). Organic acids as alternatives to antibiotic growth promoters in poultry. *Pharm Innov*, 6, 164-9.

Zhang, K. Y., Yan, F., Keen, C. A., & Waldroup, P. W. (2005). Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 4(9), 612-619.

Zhao, Y., Wang, Y., Lu, X., Sun, J., & Ren, Z. (2021). Effects of the substitution of oregano essential oil for antibiotics in the plateau-broiler diet. *Italian Journal of Animal Science*, 20(1), 1328-1337.

CAPÍTULO 2 – ASSOCIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS BIOATIVOS MICROENCAPSULADOS SOBRE A QUALIDADE DA CARNE IN NATURA E CONGELADA E A AVALIAÇÃO DO SISTEMA REDOX DA MUCOSA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

A oxidação lipídica é maior causa de deterioração da qualidade de carnes, sendo um importante fator para determinar o tempo de prateleira de produtos cárneos. Assim, a utilização de ácidos orgânicos (AO) e óleos essenciais (OE) tem demonstrado importante atividade protetiva em relação a regulação dos processos de oxidação da carne de frango. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antioxidante de um *blend* de AO e OE contendo formiato de cálcio, ácido cítrico, ácido fumárico, óleo essencial de laranja (*Citrus sinenses*), timol e carvacrol sobre a qualidade da carne *in natura* e congelada e a avaliação do sistema redox da mucosa intestinal de frangos de corte. Foram utilizados 2016 pintos de corte distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos, oito repetições e 42 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por: T1 - ração basal (controle negativo); T2 - ração basal acrescida de bacitracina de zinco 15% (controle positivo); T3 - ração basal acrescida de 150g/t do *blend* de AO e OE; T4 - ração basal acrescida de 300g/t do *blend* de AO e OE; T5 - ração basal acrescida de 450g/t do *blend* de AO e OE; e T6 - ração basal acrescida de 600g/t do *blend* de AO e OE. Aos 42 dias de idade, foi coletado sangue de 24 aves por tratamento para determinação da atividade antioxidante (DPPH e ABTS). Amostras do peito de 16 aves por tratamento foram utilizadas para análises de DPPH, ABTS e MDA. Foram coletadas amostras do peito de 24 aves por tratamento para classificação de severidade da ocorrência de *White striping* e *Wooden breast*. Análises de qualidade da carne foram determinadas através dos parâmetros pH inicial, perda de água por pressão, análise de cor, perda de água por gotejamento, perdas de água durante o congelamento, análise de perda de água por cocção e força de cisalhamento. Para avaliação do efeito antioxidante intestinal foram quantificadas as atividades dos marcadores SOD, CAT, GST, GSH e LPO. A suplementação com AO e OE microencapsulados influenciou a estabilidade oxidativa (TBARS) e a atividade antioxidante (DPPH) da carne de frangos de corte, impactou os índices de white striping (macro), análise de cor, perda de água por descongelamento e as enzimas antioxidantes GST e CAT

Palavras-chave: *Citrus sinenses*; Compostos bioativos; efeito sinérgico

CHAPTER 2 - ASSOCIATION OF ORGANIC ACIDS AND MICROENCAPSULATED BIOACTIVE COMPOUNDS ON THE QUALITY OF FRESH AND FROZEN MEAT AND THE EVALUATION OF THE REDOX SYSTEM OF THE INTESTINAL MUCOSA OF BROILERS

ABSTRACT

The lipid oxidation is the major cause of meat quality deterioration, being an important factor to determine the shelf life of meat products. Thus, the use of organic acids (OA) and essential oils (EO) has shown important protective activity in relation to the regulation of oxidation processes in chicken meat. The objective of this work was to evaluate the antioxidant effect of a blend of OA and EO containing calcium formate, citric acid, fumaric acid, orange essential oil (*Citrus sinenses*), thymol and carvacrol on the quality of fresh and frozen meat and the evaluation of the redox system of the intestinal mucosa of broilers. A total of 2016 broilers were distributed in a completely randomized design, with six treatments, eight replications and 42 birds per experimental unit. The treatments consisted of: T1 - basal ration (negative control); T2 - basal diet plus 15% zinc bacitracin (positive control); T3 - basal ration plus 150g/t of OA and EO blend; T4 - basal ration plus 300g/t of OA and EO blend; T5 - basal ration plus 450g/t of OA and EO blend; and T6 - basal ration plus 600g/t of OA and EO blend. At 42 days of age, blood was collected from 24 birds per treatment to determine the antioxidant activity (DPPH and ABTS). Breast samples from 16 birds per treatment were used for DPPH, ABTS and MDA analyses. Breast samples were collected from 24 birds per treatment to classify the severity of the occurrence of White striping and Wooden breast. Meat quality analyzes were determined through the parameters of pH, water loss by pressure, color analysis, water loss by dripping, water loss during freezing, analysis of water loss by cooking and shear force. To evaluate the intestinal antioxidant effect, the activities of SOD, CAT, GST, GSH and LPO markers were quantified. The supplementation with microencapsulated OA and EO influenced the oxidative stability (TBARS) and antioxidant activity (DPPH) of broiler meat, impacted in the white striping (macro) indexes, color analysis, thawing water loss and in the antioxidant enzymes GST and CAT.

Key words: *Citrus sinenses*; bioactives compounds; synergistic effect

INTRODUÇÃO

Aditivos nutricionais, recentemente têm sido usados como alternativas aos antibióticos promotores do crescimento na produção animal para melhorar os parâmetros de desempenho e das características de qualidade dos produtos derivados, incluindo carne, leite e ovos (Moustafa et al., 2020).

Óleos essenciais derivados principalmente de especiarias e ervas e seus compostos puros demonstraram ter importante atividade protetiva em relação a regulação dos processos de oxidação da carne de frango. A oxidação lipídica é maior causa de deterioração da qualidade de carnes, sendo um importante fator para determinar o tempo de prateleira de produtos cárneos, sejam estes puros ou subprodutos (Carvalho, 2020).

A oxidação de lipídios e a produção de radicais livres são processos naturais que destroem a estrutura da membrana, perturbam processos de transporte e causam perdas na função das organelas celulares. (Pisoschi e Pop, 2015). O uso comumente de antioxidantes sintéticos na dieta de frangos de corte para prevenir a peroxidação lipídica traz preocupações e questionamentos por parte dos consumidores sobre os efeitos de toxicidade dos antioxidantes sintéticos (Carocho et al., 2014; de Barros et al., 2021; da Nobrega Santos, 2020).

Os óleos essenciais são fontes de antioxidantes naturais, que devido às propriedades redox, esses compostos têm a capacidade de neutralizar os radicais livres, quelar metais de transição e extinguir o oxigênio *single* por decomposição de peróxidos (Lourenço et al., 2019).

Alguns estudos utilizando óleos essenciais, mostraram redução da oxidação lipídica em carne de frango armazenada (Yesilbag et al., 2011) e efeitos positivos sobre a cor, força de cisalhamento, perda por cozimento (Symeon et al., 2009), pH, teor de água e de gordura da carne (Laghouti et al., 2020) e atividade de antioxidante através dos indicadores DPPH e FRAP (Ibrahim et al., 2021)

Por outro lado, os efeitos dos óleos essenciais podem ser bastante variáveis. Park et al. (2018), não encontraram diferença significativa de um *blend* de óleos essenciais sobre a qualidade da carne de peito de frango. O modo de

ação e local de atuação dos princípios ativos dos extratos vegetais são dependentes de sua composição, nível de suplementação e formas de extração.

A associação de aditivos pode resultar em efeitos sinérgicos sobre a proteção antioxidante da carne pela melhoria da saúde intestinal, reduzindo os processos inflamatórios na mucosa intestinal e do consequente estresse oxidativo resultante da defesa imune de mucosa (Khatlab, 2019).

Os ácidos orgânicos têm sido estudados largamente como alternativas para modular a microbiota e promover a saúde intestinal dos animais. No entanto, seu efeito sobre a qualidade da carne de frangos de corte ainda é pouco investigado (Dauksiene et al., 2021).

A suplementação dos ácidos láctico, acético, propiônico, caprílico e tânico promoveram diferenças significativas sobre uma série de parâmetros de qualidade de carne de frangos de corte, como: cor, pH, umidade, capacidade de retenção de água, perda por gotejamento e por cocção avaliados por Menconi et al. (2014). Estes resultados contrastam com os encontrados por Mohamed et al. (2018), que observaram melhora em características de carcaça, mas não na qualidade da carne, quando avaliaram um *blend* contendo os ácidos cítrico, fumárico, málico, láctico e ortofosfórico.

Assim, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito antioxidante de *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais microencapsulados sobre a qualidade da carne in natura e congelada e a avaliação do sistema redox da mucosa intestinal de frangos de corte

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e instalações

O experimento foi realizado no Aviário Experimental da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. Todos os procedimentos conduzidos com os animais e de coleta de material biológico foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais em Experimentação (Protocolo nº 16/2021).

Foram utilizados 2016 pintos de corte, machos da linhagem Cobb 500, provenientes de matrizes de um mesmo lote com 40 semanas de idade. As aves

foram distribuídas aleatoriamente em um delineamento inteiramente casualizado com 6 tratamentos, e 8 repetições, com 42 aves por unidade experimental.

Os tratamentos foram constituídos por:

T1 Controle negativo (CN) - Ração basal

T2 Controle Positivo (CP) - Ração basal + Bacitracina de Zinco 15% (55ppm)

T3 - Ração basal + 150g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais

T4 - Ração basal + 300g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais

T5 - Ração basal + 450g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais

T6 - Ração basal + 600g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais

O *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais microencapsulados consistiu de uma combinação entre formiato de cálcio, ácido cítrico, ácido fumárico, óleo essencial de laranja (*Citrus sinenses*), timol e carvacrol. A Bacitracina de Zinco foi utilizada como antibiótico promotor do crescimento (controle positivo).

Os boxes experimentais têm a dimensão de 2,0 X 1,80, totalizando 3,60 m² de área disponível (descontado o espaço do balde). A temperatura ambiental foi mantida dentro da faixa de conforto térmico por meio de campânulas providas de lâmpadas de aquecimento infravermelho, ventiladores, exaustores e placas de resfriamento controlados por um sistema automatizado. A cama utilizada foi de maravalha nova.

O programa vacinal foi realizado no incubatório (Marek, Gumboro e Bronquite) e não foram repetidas estas vacinações no campo.

Manejo e programa de alimentação

As aves foram alojadas e receberam água de qualidade e alimento *ad libitum* durante todo o período experimental de 42 dias. Nos primeiros 4 dias, a água foi oferecida em bebedouros infantis e a partir do 5º dia de idade, por meio de bebedouro *nipple*.

As aves até os 14 dias de idade receberam 24 horas de luz, em função do sistema de aquecimento (lâmpada halógena de 300W). Após este período receberam 16 horas de luz e 8 horas de escuro diariamente até 21 dias de idade e posteriormente 14 horas de luz e 10 horas de escuro até o final do experimento.

As rações experimentais foram fareladas, a base de milho e farelo de soja e formuladas visando atender as exigências nutricionais das diferentes fases. Independentemente do tratamento, todas as rações foram isonutritivas e foram formuladas com 500 FTU/kg de fitase utilizando a seguinte matriz nutricional: 0,12% de P de Ca.

O programa nutricional do teste foi dividido em 3 fases: inicial (1 a 21 dias), crescimento (22 – 35 dias idade) e abate (36 – 42 dias de idade) e estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição nutricional das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Inicial	Crescimento	Final
	(1-21 dias)	(22-35 dias)	(36-45 dias)
Milho	52,380	56,331	62,639
Farelo de soja	40,945	36,812	30,854
Óleo de soja	2,991	3,518	3,600
Calcário	1,069	0,951	0,838
Fosfato bicálcico	1,035	0,866	0,528
Sal comum	0,323	0,306	0,289
Bicarbonato de sódio	0,294	0,290	0,278
L-Lisina	0,194	0,211	0,236
DL-Metionina	0,380	0,344	0,293
L-Treonina	0,044	0,038	0,028
Cloreto de colina	0,085	0,073	0,057
Premix vitamínico e mineral ^{1, 2, 3}	0,200	0,200	0,300
Caulim ⁴	0,060	0,060	0,060
Valores calculados			
EM (Kcal/Kg)	3.030	3.109	3.184
Proteína Bruta (%)	23,59	21,967	19,669
Cálcio (%)	0,903	0,808	0,674
Fósforo disponível (%)	0,431	0,393	0,321
Sódio (%)	0,220	0,212	0,201
Cloro (%)	0,270	0,260	0,250
Potássio (%)	0,919	0,855	0,766
Na+K+Cl (meq/100g)	255	238	213
Lisina Dig. (%)	1,270	1,179	1,050
Metionina Dig. (%)	0,688	0,635	0,560
Met + Cis Dig. (%)	1,003	0,931	0,829
Triptofano Dig. (%)	0,273	0,251	0,220
Treonina Dig. (%)	0,838	0,778	0,693
Arginina Dig. (%)	1,480	1,362	1,194
Leucina Dig. (%)	1,786	1,690	1,557
Isoleucina Dig. (%)	0,916	0,846	0,746

Valina Dig. (%)	0,977	0,907	0,808
¹ Premix Inicial (Conteúdo por kg de premix): Vitamina A (mín.) 4.000.000UI/kg, vitamina D3 (mín.) 1.000.000UI/kg, vitamina E (mín.) 7.500UI/kg, vitamina K3 (mín.) 750mg/kg, vitamina B1 (mín.) 900mg/kg, vitamina B2 (mín.) 2.500mg/kg, vitamina B6 (mín.) 1.200mg/kg, vitamina B12 (mín.) 5.000mcg/kg, niacina (mín.) 13,50g/kg, ácido pantotênico (mín.) 4.500mg/kg, ácido fólico (mín.) 400mg/kg, biotina (mín.) 20mg/kg, colina (mín.) 150g/kg, manganês (mín.) 35g/kg, zinco (mín.) 30g/kg, ferro (mín.) 25g/kg, cobre (mín.) 4.000mg/kg, iodo (mín.) 400mg/kg, selênio (mín.) 150mg/kg, BHT (mín.) 270mg/kg, fitase (mín.) 250U/g.			
² Premix crescimento (Conteúdo por kg de premix): Vitamina A (mín.) 3.200.000UI/kg, vitamina D3 (mín.) 800.000UI/kg, vitamina E (mín.) 6.000UI/kg, vitamina K3 (mín.) 600mg/kg, vitamina B1 (mín.) 720mg/kg, vitamina B2 (mín.) 2.000mg/kg, vitamina B6 (mín.) 960mg/kg, vitamina B12 (mín.) 4.000mcg/kg, niacina (mín.) 10,80g/kg, ácido pantotênico (mín.) 3.600mg/kg, ácido fólico (mín.) 320mg/kg, biotina (mín.) 16mg/kg, colina (mín.) 100g/kg, manganês (mín.) 35g/kg, zinco (mín.) 30g/kg, ferro (mín.) 25g/kg, cobre (mín.) 4.000mg/kg, iodo (mín.) 400mg/kg, selênio (mín.) 150mg/kg, BHT (mín.) 270mg/kg, fitase (mín.) 250U/g.			
³ Premix abate (Conteúdo por kg de premix): Vitamina A (mín.) 1.067.000UI/kg, vitamina D3 (mín.) 266.700UI/kg, vitamina E (mín.) 2.000UI/kg, vitamina K3 (mín.) 200mg/kg, vitamina B1 (mín.) 240mg/kg, vitamina B2 (mín.) 666mg/kg, vitamina B6 (mín.) 320mg/kg, vitamina B12 (mín.) 1.333mcg/kg, niacina (mín.) 3.600mg/kg, ácido pantotênico (mín.) 1.200mg/kg, ácido fólico (mín.) 106mg/kg, biotina (mín.) 5,33mg/kg, colina (mín.) 35g/kg, manganês (mín.) 23,30g/kg, zinco (mín.) 20g/kg, ferro (mín.) 16,67g/kg, cobre (mín.) 2.667mg/kg, iodo (mín.) 266mg/kg, selênio (mín.) 100mg/kg, fitase (mín.) 166,66U/g.			
⁴ O caulim foi substituído pela adição de Bacitracina de Zinco ou pelo <i>Blend</i> de ácidos orgânicos e óleos essenciais de acordo com o tratamento experimental.			

Avaliação da capacidade antioxidante sérica

Ao final do período experimental (42 dias de idade) foi coletado sangue de 3 aves/box (24 aves/tratamento) para determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH. A técnica foi adaptada de Rufino et al. (2007) e Sousa et al. (2007). Foram realizadas as análises de determinação da capacidade antioxidante total no soro pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), segundo a técnica adaptada de RUFINO et al. (2007) e Souza et al. (2007). Outro marcador antioxidante avaliado foi o radical ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) que foi obtido através da interação de solução ABTS 7 mM (5 mL) com 88 mL de persulfato de potássio 140 mM. A mistura foi incubada no escuro a 25 °C durante 16 horas, diluída com etanol até absorvância de 0.70 ± 0.2 . Uma alíquota de 30 µL das amostras foi misturada

com 3000 µL da solução ABTS e a absorbância medida em 734 nm após 6 minutos (RE et al., 1999).

Avaliação da estabilidade oxidativa e atividade antioxidante antes e após o congelamento

Amostras do peito de duas aves (16 aves/tratamento) foram refrigeradas por 24 horas post mortem e em seguida submetidas à análise da estabilização lipídica e oxidação proteica. Dessas amostras, foram retiradas mais três sub amostras para as mesmas análises, 2, 3 e 6 meses após a coleta. Essas amostras foram armazenadas de acordo com a data de análise em freezer -20°C. A análise para avaliação da estabilidade lipídica foi realizada, através da concentração de TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) e a extensão da oxidação das proteínas, foi mensurada pela determinação do grupo carbonil.

A avaliação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH e ABTS também foram avaliados na carne juntamente com a avaliação da estabilidade oxidativa (24 horas post mortem e 2, 3 e 6 meses após congelamento).

Avaliação da ocorrência de *White Striping* - macroscópica

Foi realizada a classificação de severidade da ocorrência de *White Striping* utilizando-se 3 aves por repetição (24 aves/tratamento). As estrias foram classificadas em normal (peitos que não apresentem estrias brancas visíveis), moderada (peitos com estrias com espessura < 1 mm, porém visíveis na superfície muscular) e severa (estrias esbranquiçadas, paralelas à fibra muscular, com espessura > 1mm e facilmente visíveis na superfície muscular), segundo a metodologia aplicada por Kuttappan et al. (2012).

Avaliação da ocorrência de *Wooden Breast* – macroscópica

Os peitos utilizados para avaliação da ocorrência de *White Striping* também foram avaliados quanto a ocorrência de *Wooden breast*. A classificação utilizada foi a mesma dos abatedouros de frangos de corte, que consideram

aceitáveis os peitos que apresentarem estrias pouco visíveis lesões leves, sem dureza ou áreas pálidas ou levemente afetado nas áreas craniais e caudais e não aceitáveis, os peitos contendo estrias esbranquiçadas, com hemorragia superficial e presença de exsudato estéril na superfície muscular e que são descartados pela linha de inspeção sanitária. Esse padrão de classificação foi adaptado ao estabelecido por Kuttappan et al. (2017).

Avaliação da ocorrência de *White Striping* – microscópica

Foram coletadas amostras longitudinais do músculo *Pectoralis major* de 24 aves/tratamento (3 aves de cada repetição), as quais foram fixadas em formol tamponado a 10%. Os cortes foram orientados longitudinalmente, com oito micras de espessura e submetidos à coloração de Tricrômico de Mallory. A captura das imagens foi realizada por meio de câmera digital de alta resolução PRO SERIES da Mídia Cibertecnics, acoplada ao microscópio Olympus Bx 40, em aumento de 4 vezes. Para a leitura das imagens, foi utilizado um analisador de imagem computadorizado IMAGE PROPLUS 5.2 (Mídia Cibertecnics) com o objetivo de mensurar a proliferação de tecido conjuntivo (colágeno) entremeado aos feixes musculares em relação a área total do corte capturado. Para tal, foi atribuída uma cor para a estrutura mensurada a fim de estabelecer o contraste entre as demais estruturas. Através do contraste, o analisador de imagens calculou o percentual da cor que foi atribuída a estrutura. O procedimento foi realizado individualmente para o tecido conjuntivo e proteína muscular.

Avaliação das propriedades tecnológicas e qualidade de carne

Os peitos das mesmas aves (24 aves/tratamento) foram utilizados para as seguintes análises de qualidade da carne:

PH inicial

O valor de pH foi mensurado no músculo *Pectoralis major* direito logo após o abate (pH inicial) através do medidor de pH (Hanna® Instruments, modelo HI98163, Barueri – SP - Brasil) utilizando um eletrodo de referência Ag/AgCl com

compensação automática de temperatura e junção aberta (Hanna® Instruments, modelo FC2323, Barueri – SP - Brasil). O eletrodo foi calibrado previamente com soluções tampão de referência de pH 4,00; pH 7,00 e pH 10,00 (SPECSOL, SQ36190, SQ36250 e SQ36320, Jacareí-SP) e em seguida foi realizada a leitura da medida de pH da amostra.

Perda de água por pressão

Foram pesados dois gramas da amostra do músculo do peito direito em balança semi-analítica. A amostra foi posicionada entre dois papéis filtro (Whatman n.1) e foi pressionada entre duas placas de acrílico com um peso de 10 kg, por cinco minutos. Após a prensagem a amostra foi pesada novamente para ser calculada a perda de água, seguindo a técnica descrita por Bridi et al. (2012).

Análise de cor

A cor foi analisada 24 horas após a coleta e 3 meses após congelamento nas amostras após 30 minutos de exposição ao oxigênio, para reação da mioglobina com o oxigênio atmosférico. Foram realizadas três leituras por amostra por meio do aparelho colorímetro portátil (Konica Minolta, Color reader CR10, Mahwah, EUA) na superfície ventral do músculo Pectoralis Majordireito. Os componentes luminosidade (L^*), índice de vermelho (a^*) e índice de amarelo (b^*) foram expressos no sistema de cor CIELAB.

Perda de água por gotejamento

Foi analisada segundo a técnica descrita por Boccard et al. (1981). O músculo “sassami” (músculo peitoral profundo) do lado direito e esquerdo do peito foram coletados e pesados em balança semi-analítica. Em seguida, as amostras foram suspensas por um gancho de aço galvanizado inoxidável em forma de “S” para que uma extremidade sustente a carne e a outra fique presa nas grades da geladeira. As amostras foram colocadas dentro de uma camada dupla de saco de polietileno, estes foram inflados e fechados com barbante. As

amostras com o sassami direito foram mantidas por 48 horas sobre refrigeração a 4°C, enquanto que as amostras do sassami esquerdo permanecem por 96 horas. Posteriormente a cada período, as amostras foram pesadas novamente para ser calculada a perda de água por gotejamento.

Perdas de água durante o congelamento

Inicialmente, todas as amostras foram congeladas no mesmo tempo. Em seguida, foi retirada uma parte do músculo *Pectoralis major* esquerdo o qual foi pesado e congelado e pesado novamente após 24 horas de descongelamento a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ (perda de líquido por descongelamento). Outra alíquota foi congelada e descongelada após 3 meses para análise da perda de água durante o congelamento.

Análise de perda de água por cocção

A outra parte restante da porção mediana do músculo *Pectoralis major* esquerdo, foi submetida à cocção dentro de sacos de polietileno através de banho-maria por 60 minutos a 180°C. Após a cocção, as amostras foram refrigeradas por 24 horas para posterior pesagem e obtenção do percentual de perda de água por cocção. Ambas as técnicas foram conduzidas de acordo com a metodologia modificada de Silva Sobrinho (1999). Outra alíquota foi congelada e descongelada após 3 meses para análise da perda de água por cocção.

Força de cisalhamento

Foram retiradas, de cada amostra do músculo *Pectoralis major* esquerdo cozido, seis sub-amostras cilíndricas de 2,5 cm de comprimento e 1,27 cm de diâmetro, utilizando-se um amostrador de aço de forma cilíndrica. A força de cisalhamento foi medida perpendicularmente à orientação das fibras musculares com a lâmina Warner-Bratzler adaptada ao texturômetro (Modelo TA-XT2i, StableMycroSystems LTDA., Goldalming, UK) (Whipple et al., 1990). Outra alíquota foi congelada e descongelada após 3 meses para avaliação da força de ruptura da carne.

Avaliação do efeito antioxidante intestinal

Aos 42 dias foram coletadas amostras de raspado da mucosa intestinal para avaliação do efeito de sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Foram quantificadas as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutathione transferase (GST), a da glutathione (GSH) e a da peroxidação lipídica (LPO). Essas avaliações permitem inferir e discutir sobre o funcionamento de sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos sobre a proteção dos órgãos contra lesões oxidativas causadas pela produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), incluindo o peróxido de hidrogênio, dióxigênio singleto ($1O_2$) e o radical hidroxila (HO).

As análises foram realizadas no laboratório Imunova Análises Biológicas Ltda (Curitiba/PR). A enzima SOD é essencial na modulação das concentrações de O_2 na célula, sendo utilizada como marcador para reações envolvendo essa molécula. O ácido pirogalol reage com o O_2 , formando produtos eletroativos que formam uma coloração amarelada. A reação é detectada no comprimento de onda de 440 nm (GAO et al., 1998). A catalase atua na degradação de H_2O_2 em H_2O e O_2 . O princípio do método se baseia na formação de um complexo catalase- H_2O_2 . No comprimento de onda de 240 nm, a degradação de H_2O_2 causa uma diminuição contínua na absorbância, demonstrando a atividade da catalase (AEBI, H., 1984). GSTs são responsáveis por iniciar a detoxificação de agentes alquilantes, através do grupo -SH da glutathione. O método para detecção da atividade da GST se baseia na formação de um conjugado entre o CDNB e a GST, que é detectado por cinética no comprimento de onda de 340 nm (HABIG; PABST; JAKOBY, 1974). A GSH é uma molécula que está envolvida em vários processos celulares, sendo considerada um componente essencial para a reação redox. Sua determinação se dá através da sua reação com o DTNB, que altera a intensidade de cor da amostra. A reação é detectada no comprimento de onda de 415 nm (SEDLAK; LINDSAY, 1968).

No estresse oxidativo ocorre a formação de peróxidos lipídicos, que podem ser detectados através de uma reação onde os peróxidos oxidam o Fe^{2+} para Fe^{3+} quando em solução ácida. O Fe^{3+} forma um complexo com reativo de FOX-2, que é detectado no comprimento de onda de 560 nm (JIANG; HUNT; WOLFF, 1992).

Análise estatística

Para as análises estatísticas foi utilizado o software IBM SPSS (SPSS Inc., Chicago, USA, versão 26). Os dados foram submetidos a análise de normalidade, homogeneidade e posteriormente foram submetidos a análise de variância utilizando o modelo linear generalizado (ANOVA) e quando dado não paramétrico ao teste de Kruskal-Wallis. O teste de Tukey foi utilizado para comparação entre médias. Os dados relacionados a dieta controle negativo e aos níveis de suplementação do *blend* de aditivos (B150, B300, B450 e B600g/t) foram submetidos à análise de regressão até segunda ordem (quadrática).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da capacidade antioxidante sérica

A suplementação das dietas com *blend* comercial de ácidos orgânicos e óleos essenciais não afetou ($p < 0,05$) a atividade antioxidante sérica total através da captura dos radicais livres DPPH e ABTS (Tabela 2).

As condições de criação do frango como temperatura, estresse infeccioso ou por calor, densidade de criação, condições *ante mortem* afetam diretamente a capacidade antioxidante orgânica. O fato de o experimento ter sido conduzido em um aviário experimental, sem desafio sanitário, com ração produzida a partir de ingredientes de ótima qualidade e aves mantidas sob ambiência controlada, pode não ter gerado um desequilíbrio mínimo entre o controle negativo e os demais tratamentos, de forma que os antioxidantes pudessem ter demonstrado o seu potencial antioxidante.

Roofchae et al. (2011) observaram resultados semelhantes quando avaliaram o efeito da suplementação de óleo essencial de orégano na dieta de frangos de corte sobre a atividade antioxidante sérica utilizando DPPH como marcador. Alhajj et al. (2017) concluíram que a suplementação de anis estrelado melhorou a capacidade antioxidante total sérica, avaliada através do marcador ABTS.

Tabela 2 – Atividade antioxidante sérica (DPPH e ABTS) de frangos de corte recebendo diferentes níveis do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA	L	Q
DPPH (mg L ⁻¹),	8,07	6,90	7,76	7,71	8,18	7,40	41,00	0,948	0,952	0,959
ABTS (μmol L ⁻¹),	9,16	8,42	8,44	8,96	9,18	9,21	22,80	0,333	0,523	0,323

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = *Blend* 150 g/t; B300 = *Blend* 300 g/t; B450 = *Blend* 450 g/t; B600 = *Blend* 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático.

Avaliação da estabilidade oxidativa e atividade antioxidante da carne de frango in natura e após o congelamento

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada através das técnicas de DPPH e ABTS, enquanto que o índice de oxidação lipídica foi determinado através da análise TBARS.

De acordo com a Tabela 3, em relação ao parâmetro DPPH, a dosagem de 450 g/t foi eficaz em aumentar a atividade antioxidante da carne em relação ao controle negativo em dois tempos (1 e 60 dias). Em relação aos períodos avaliados (1, 60, 90 e 120), a maior capacidade antioxidante ($p < 0,001$) foi constatada aos 60 dias em todos os tratamentos.

Para os dias 1, 60 e 90 de armazenamento foi observado um efeito quadrático ($p < 0,05$) sobre os tratamentos que receberam o *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais, o que sugere uma resposta dose dependente.

Estes resultados podem ser atribuídos a presença de altos teores de compostos bioativos encontrados nos óleos essenciais do aditivo utilizado que através dos efeitos antioxidantes, retardam a oxidação lipídica na carne dos animais. A ação antioxidante do *blend* está ligada a capacidade de se ligar a radicais livres e inibir processos de oxidação dos lipídeos presentes na carne, os quais ocasionam o *off-flavor* (cheiro e sabor indesejável na indústria alimentícia) oriundo da rancidez (oxidação) do produto (Ornaghi et al. 2020)

El-Ashram et al. (2020) suplementaram a dieta dos frangos de corte com óleos essenciais tomilho e anis e também observaram aumento da concentração tecidual de DPPH.

Tabela 3 – Atividade antioxidante tecidual (DPPH) aos 1, 60, 90 e 120 dias, em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA	L	Q
Dia 1	50,96bB	53,70abB	52,07abB	49,55bB	56,25aB	53,47abB	9,13	<0,001	0,027 ¹	0,082 ²
Dia 60	56,85bA	61,46aA	63,6aA	61,51aA	60,8aA	63,57aA	7,98	<0,001	0,005 ³	0,011 ⁴
Dia 90	27,98abC	31,41abC	28,92abD	25,8bD	31,42abC	34,28aC	21,22	0,004	0,006 ⁵	0,003 ⁶
Dia 120	32,04abC	29,88bC	33,67abC	32,49abC	34,16abC	36,07aC	15,8	0,034	0,62	0,569
CV%	31,4	32,1	33,3	37,2	30,3	28,2		P D*T		
P- valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		0,004		

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = Blend 150 g/t; B300 = Blend 300 g/t; B450 = Blend 450 g/t; B600 = Blend 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; 1 $\hat{Y}$ = 51,002+0,007925X (R²=0,06); 2 $\hat{Y}$ = 50,659+0,012538X-0,000007738X²(R²=0,06); 3 $\hat{Y}$ =58,189+0,008170X (R² = 0,12); 4 $\hat{Y}$ = 57,474+2,349X-0,0000161X² (R²=0,12); 5 $\hat{Y}$ =26,678+0,00938X (R²=0,09); 6 $\hat{Y}$ =28,457-0,013930X-0,00004004X² (R²=0,14); a, b: indicam diferença estatística na mesma linha (P≤0,05); A, B, C, D: indicam diferença estatística na mesma coluna (P≤0,05).

Os resultados de ABTS, demonstrados na Tabela 4, evidenciam que o controle positivo (bacitracina de zinco) apresentou maior atividade antioxidante que o controle negativo em dois tempos (1 e 90 dias). Em relação aos períodos avaliados, as maiores capacidades antioxidantes foram observadas nos dias 1 e 120, sendo que nessa última avaliação, todos os tratamentos que receberam o *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais apresentaram maior (p<0,001) proteção antioxidante em relação ao controle positivo.

Tabela 4 – Atividade antioxidante tecidual (ABTS) aos 1, 60, 90 e 120 dias, em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA	L	Q
Dia 1	53,02bB	58,41aA	54,92abB	53,06bA	55,18abA	54,18abAB	9,82	0,048	0,616	0,882
Dia 60	48,27aC	46,41abC	47,70abC	43,39bB	47,14abB	50,95aB	11,85	<0,001	0,909	0,088
Dia 90	37,25cD	43,18aC	41,59abD	37,69bcB	39,63abcC	41,60abC	11,03	<0,001	0,291	0,291
Dia 120	58,88abA	53,21bB	59,84aA	57,93abA	59,01abA	56,39abA	10,20	0,015	0,054	0,156
CV%	16,90	14,90	16,80	20,80	17,30	13,90		P D*T		
P- valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001		

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = Blend 150 g/t; B300 = Blend 300 g/t; B450 = Blend 450 g/t; B600 = Blend 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; a, b, c: indicam diferença estatística na mesma linha (P≤0,05); A, B, C, D: indicam diferença estatística na mesma coluna (P≤0,05).

No dia 1 houve efeito linear decrescente (p=0,019) (Tabela 5) para os valores de MDA, sendo observado uma redução da oxidação nos tratamentos com a adição do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais. Aos 60 dias, o controle positivo e o tratamento com 300g/t apresentaram menores índices de oxidação em relação ao tratamento com 450 g/t sugerindo um efeito pró-oxidante desta dosagem. Nos períodos seguintes (90 e 120 dias) não houve diferença significativa (p>0,05) entre os tratamentos.

Luiggi et al. (2020) alertaram para esta mesma hipótese quando avaliaram a suplementação de bixina, um carotenoide, na dieta de frangos de corte, observando que apesar do antioxidante melhorar a conversão alimentar, seu excesso poderia apresentar efeito negativo na qualidade da carne, aumentando a oxidação lipídica devido ao efeito pró-oxidante e, consequentemente, reduzindo o “*shelf-life*” do produto final.

Tabela 5 – Concentração de malonaldeído (MDA mg/kg) na carne in natura (1 dia), 60, 90 e 120 dias, em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA	L	Q
Dia 1	0,380C	0,442B	0,441B	0,330B	0,277C	0,340B	56,71	0,087	0,019 ¹	0,065
Dia 60	0,520abBC	0,440bB	0,580abB	0,430bB	0,625aB	0,450abB	31,57	0,004	0,447	0,716
Dia 90	0,680B	0,540B	0,590B	0,515B	0,596B	0,550B	35,93	0,305	0,320	0,272
Dia 120	1,308A	1,141A	1,151A	1,270A	1,256A	1,523A	39,10	0,747	0,265	0,288
CV%	69,50	58,70	57,00	73,30	64,70	77,50		P D*T		
P-valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		0,262		

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = *Blend* 150 g/t; B300 = *Blend* 300 g/t; B450 = *Blend* 450 g/t; B600 = *Blend* 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; ¹Y = 0,433-0,000293X (R²=0,09); a, b: indicam diferença estatística na mesma linha (P≤0,05); A, B, C: indicam diferença estatística na mesma coluna (P≤0,05).

Avaliação da ocorrência de *White Striping* e *Wooden Breast* - macroscópica

Os resultados apresentados na Tabela 6 demonstram que houve uma tendência (p<0,10) para a avaliação macroscópica de *White Striping*, sendo que as aves que consumiram a dosagem de 300g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais apresentaram menor incidência da miopatia em relação ao controle positivo.

Este resultado pode ser explicado quando associado com um parâmetro de carcaça, uma vez que o controle positivo apresentou maior incidência de *White Striping* e maior peso (g) de peito em relação ao tratamento com 300g/t de ácidos orgânicos e óleos essenciais, sugerindo que a manifestação da miopatia pode estar correlacionada com o crescimento rápido do músculo.

Em geral, a origem etiológica dessas miopatias ainda não está bem esclarecida, no entanto, existem diversas hipóteses que podem explicar o motivo para os animais apresentarem essa miopatia. Mudalal et al. (2021) relatam que a incidência destas anormalidades musculares é frequentemente encontrada em frangos de corte com crescimento rápido e alto desenvolvimento de peito, o que

pode levar a hipóxia muscular, devido à baixa densidade de capilares sanguíneos e fornecimento insuficiente de oxigênio e nutrientes. Assim, como as aves do controle positivo apresentaram maior ganho de peso e maior incidência de *White Striping* é provável que a alta taxa de crescimento muscular do peito levou a este quadro de miopatia dos animais.

Não houve diferença significativa dos tratamentos sobre a presença de *Wooden Breast* (Tabela 6).

Tabela 6 – Incidência de *White striping* e *Wooden Breast* em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	Tratamentos						CV%	P - valor
	CN	CP	B150	B300	B450	B600		
White striping	0,87	1,37	0,87	0,69	1,00	0,94	70,90	0,064
Wooden breast	0,50	0,75	0,68	0,50	0,62	0,38	86,80	0,280

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = *Blend* 150 g/t; B300 = *Blend* 300 g/t; B450 = *Blend* 450 g/t; B600 = *Blend* 600 g/t.

Avaliação da ocorrência de *White Striping* - microscópica

Os resultados apresentados na Tabela 7, demonstram que não houve ($p>0,05$) efeito significativo sobre a deposição de fibra muscular e colágeno entre os tratamentos. Segundo Salles et al. (2019), existe uma correlação entre a quantidade total de colágeno e a incidência de *white striping* presente em peitos de frangos de corte.

Houve diferença significativa para a relação fibra muscular e colágeno (FM:C) entre o tratamento que recebeu a dosagem de 450 g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais e o controle negativo. Este resultado indica que as aves que receberam a dieta contendo 450 g/t do aditivo possuíam maior relação de colágeno em relação a fibra muscular do que as aves do controle negativo, entretanto, quando comparamos com a incidência macroscópica de *white striping*, esta relação (FM:C) não foi suficiente para gerar o aspecto visual utilizado como padrão pela indústria para definir quadros desta miopatia.

Tabela 7 – Fibra muscular (%), colágeno e relação Fibra muscular:Colágeno de carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	Tratamentos						P - valor			
	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA	L	Q
Fibra muscular, %	94,12	93,68	94,00	95,03	93,74	93,84	3,60	0,564	0,424	0,570
Colágeno, %	5,88	6,32	6,00	5,52	6,26	5,40	55,30	0,781	0,424	0,570
Relação FM:C	26,39a	23,80ab	24,58ab	25,31ab	18,28b	18,92ab	56,50	0,030	0,013	0,043

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = *Blend* 150 g/t; B300 = *Blend* 300 g/t; B450 = *Blend* 450 g/t; B600 = *Blend* 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; a, b: indicam diferença estatística na mesma linha ($P \leq 0,05$).

Avaliação das propriedades tecnológicas e qualidade de carne

pH e perda de água por pressão

Não houve influência dos tratamentos ($p > 0,05$) sobre para os parâmetros de pH e perda de água por pressão (Tabela 8).

O pH é considerado um dos parâmetros físicos mais importantes para o indicar o perfil qualitativo da carne, sendo amplamente utilizado como um preditor de suas qualidades tecnológicas e sensoriais. Músculos com pH maior que 6,0 são caracterizados por desnaturação mínima de proteínas, baixa dispersão de luz e, portanto, aparência translúcida. No entanto, músculos com pH menor 6,0 podem sofrer maior desnaturação de proteínas, causando maior dispersão de luz e opacidade (Song et al. 2015; Mir et al. 2017).

Segundo de Medeiros et al. (2012) o pH também influencia diretamente as perdas de água na carne do peito, uma vez que a redução das reservas de glicogênio no músculo faz com que não haja acúmulo de ácido lático no músculo *post mortem*. Assim, o pH final da carne permanecerá elevado, se mantendo acima do ponto isoelétrico das principais proteínas musculares, e desta forma, a capacidade dessas proteínas em reter água será alta, reduzindo as perdas de água durante o processamento.

Tabela 8 – Perda de água por pressão e pH da carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	Tratamentos						P - valor			
	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA	L	Q
Pressão	7,91	8,7	8,77	8,39	8,77	7,67	39,70	0,332	0,967	0,630
pH	5,81	5,85	5,82	5,84	5,84	5,85	1,50	0,346	0,262	0,534

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = *Blend* 150 g/t; B300 = *Blend* 300 g/t; B450 = *Blend* 450 g/t; B600 = *Blend* 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático.

Análise de cor

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 9, após 24 horas, houve diferença significativa ($p < 0,05$) para o eixo a^* entre o controle positivo e os demais tratamentos, o que indica que a tonalidade apresentada nas carnes das aves do controle positivo esteve voltada em direção a coloração vermelha, indicando maiores quantidades de mioglobina presentes no músculo, enquanto que nos demais tratamento, observou-se maiores intensidades da coloração verde (Figura 1).

Após 60 dias de congelamento, houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os valores do eixo b^* do controle positivo para o controle negativo e os tratamentos com 150 g/t e 600 g/t, indicando que a coloração das carnes das aves do controle positivo apresentou tons de amarelo mais intensos do que dos demais tratamentos. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os valores de luminosidade entre os tratamentos.

A coloração da carne é influenciada diretamente pela quantidade de mioglobina presente no músculo do animal, uma vez que este pigmento é responsável por imprimir a cor vermelha nos tecidos.

Tabela 9 – Valores de luminosidade (L^*), índice de vermelho (a^*) e índice de amarelo (b^*) em carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do blend de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

Dia	Tratamentos							P - valor		
	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA	L	Q
	L^*									
24h	49,66	47,66	48,93	51,17	50,79	47,87	10,50	0,391	0,519	0,493
60d	45,43	45,79	45,91	44,74	45,55	44,83	5,70	0,579	0,835	0,972
CV%	11,70	5,50	7,70	12,60	7,90	9,80		P D $\times$ T*		
P - valor	0,018	0,061	0,030	0,001	<0,001	0,139		0,191		
	a^*									
24h	0,18ab	0,91a	-0,27b	-0,47b	-0,38b	-0,72b	101,40	0,001	0,168	0,385
60d	-1,26	-0,89	-1,34	-1,14	-1,15	-0,99	76,20	0,485	0,642	0,879
CV%	81,90	61,40	120,90	102,40	106,80	85,20		P D $\times$ T*		
P - valor	0,004	0,001	0,002	0,021	0,012	0,371		0,052		
	b^*									
24h	8,67	8,57	7,30	7,12	7,69	7,33	25,50	0,064	0,112	0,111
60d	2,88b	4,16a	2,92b	3,77ab	3,29ab	3,14b	44,80	0,044	0,540	0,248
CV%	57,90	46,40	49,00	45,60	53,80	50,80		P D $\times$ T*		
P - valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		0,065		

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = *Blend* 150 g/t; B300 = *Blend* 300 g/t; B450 = *Blend* 450 g/t; B600 = *Blend* 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; * interação entre dieta e tempo; a, b: indicam diferença estatística na mesma linha ($P \leq 0,05$).

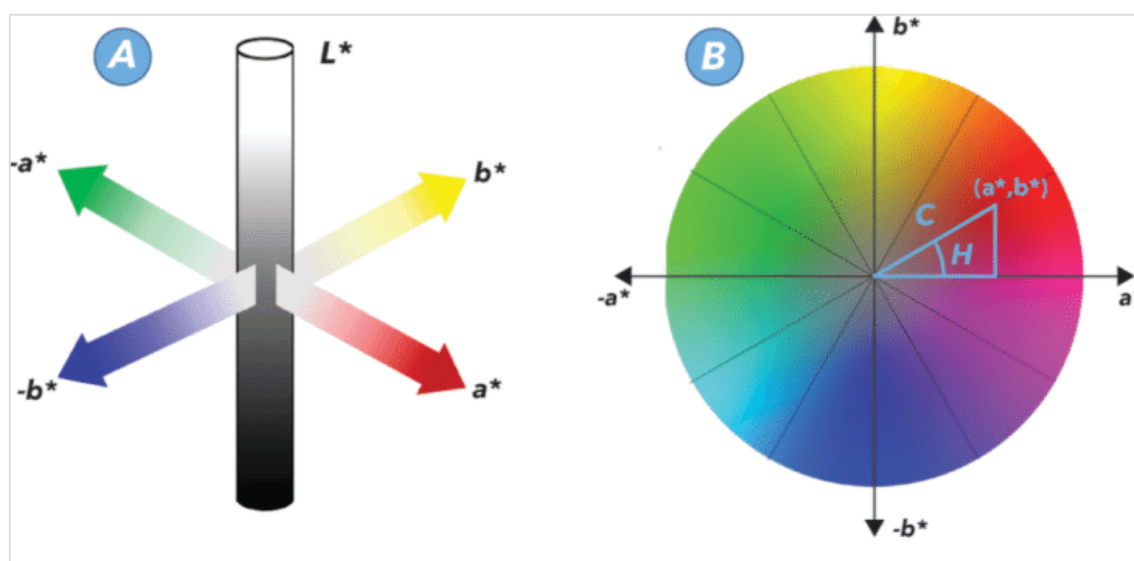


Figura 1 – A: Espaço de cores tridimensional CIELAB, onde o eixo L^* representa a luminosidade da cor; B: Plano de cores bidimensional CIELAB a^*b^* , onde C representa croma e H representa matiz (Delazio et al. 2017).

Perda de água por gotejamento, descongelamento e cozimento

Os resultados apresentados na Tabela 10 demonstram que suplementação de 300g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) indicando menor perda de peso por descongelamento (%) das amostras de peito em comparação as do controle negativo aos 60 dias.

Este efeito positivo também foi observado por Ipçak et al. (2018) quando suplementaram a ração de frangos de corte com três aditivos (pimentão, carvacrol e cinamaldeído). Al-Kelabi et al. (2020) avaliaram a adição de manjerição doce à dieta de frangos de corte concluíram que houve redução significativa das perdas por descongelamento em relação ao grupo controle.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos quando avaliadas as perdas (%) por gotejamento e cozimento, o que também foi observado por Ghiasvand et al. (2021) com a suplementação de óleo essencial de erva doce na ração de frangos de corte.

AAbdel-Wareth et al. (2019) mostraram que a adição de diferentes níveis de óleo essencial de hortelã, independentemente da dosagem utilizada, reduziu as perdas por cocção da carne de frangos.

Tabela 10 – Perdas (%) por gotejamento, descongelamento e cozimento da carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

	Tratamentos						CV%	P - valor		
	CN	CP	B150	B300	B450	B600		ANOVA	L	Q
	Perda por gotejamento									
48 horas	1,29	1,16	1,08	1,37	1,24	1,29	46,60	0,404	0,717	0,540
96 horas	1,09	1,27	0,90	1,11	1,06	0,93	48,10	0,298	0,276	0,550
CV%	26,80	49,10	26,60	40,40	33,50	39,50		P D $\times$ T*		
P - valor	<0,001	0,63	0,05	0,17	0,19	0,02		0,265		
Descongelamento (%)								ANOVA	L	Q
1	2,59	3,67	3,64	3,66	4,27	3,23	64,90	0,791	0,187	0,151
60	12,25a	10,38ab	11,81a	8,01b	11,40ab	10,52ab	44,40	0,030	0,495	0,794
CV%	95,90	67,70	67,00	74,70	64,20	67,40		P D $\times$ T*		
P - valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		0,786		
Cozimento (%)								ANOVA	L	Q
1	24,59	26,27	25,36	26,57	28,32	27,73	32,10	0,149	0,141	0,221
60	37,22	36,43	36,28	37,94	36,47	35,93	9,50	0,781	0,754	0,616
CV%	24,40	20,00	21,30	23,00	41,90	17,90		P D $\times$ T*		
P - valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,446	<0,001		0,840		

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = *Blend* 150 g/t; B300 = *Blend* 300 g/t; B450 = *Blend* 450 g/t; B600 = *Blend* 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; * interação entre dieta e tempo; a, b: indicam diferença estatística na mesma linha ($P \leq 0,05$).

Força de cisalhamento (ruptura e elasticidade)

Não foi observado diferença significativa ($p>0,05$) das dietas sobre a ruptura e a elasticidade da carne de frango (Tabela 11).

Tabela 11 – Ruptura e elasticidade da carne de frangos de corte recebendo diferentes níveis do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais.

Tratamentos						CV%	P - valor		
CN	CP	B150	B300	B450	B600		ANOVA	L	Q
Ruptura, kg/cm²									
2,79	2,91	3,21	3,26	2,65	2,76	32,90	0,236	0,771	0,242
Elasticidade, mm									
5.86	6.03	6.44	6.54	5.66	5.72	31,20	0,683	0,726	0.409

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = *Blend* 150 g/t; B300 = *Blend* 300 g/t; B450 = *Blend* 450 g/t; B600 = *Blend* 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático.

Avaliação do efeito antioxidante intestinal

As enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione transferase (GST) e seus co-fatores não enzimáticos, como a glutathione (GSH), são importantes mediadores do sistema antioxidante endógeno do organismo animal e participam diretamente dos processos de regulação das espécies reativas de oxigênio (ROS), evitando com que as aves entrem em quadros de estresse oxidativo, por exemplo. Portanto, o monitoramento destes indicadores, assim como as taxas de peroxidação lipídica (LPO), se torna uma ferramenta importante para que se possa analisar de forma direta o funcionamento dos sistemas antioxidantes.

Os resultados apresentados na Tabela 12 demonstram que houve diferença significativa ($p<0,05$) para a enzima GST entre o tratamento com 300 g/t e o com 450 g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais. Além disso, para a enzima CAT, houve efeito significativo entre o tratamento com 300 g/t do *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais e o controle positivo. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) para os demais indicadores (GSH, LPO e SOD).

A diferença estatística que houve do tratamento com 300 g/t em relação aos demais para a quantificação das enzimas GST e CAT pode ter ocorrido devido a menor necessidade da atuação dos sistemas antioxidantes endógenos, uma vez que nessa dosagem, o efeito antioxidante pode ser atribuído as próprias

características dos compostos bioativos presentes nos óleos essenciais em proteger as células contra os efeitos dos radicais livres (Schafranski et al. 2019). Esta hipótese pode ser corroborada pelos valores associados encontrados de LPO que, embora não tenha mostrado efeito significativo, foram menores em relação aos demais tratamentos, indicando uma menor taxa de peroxidação lipídica.

A capacidade antioxidante auxilia na melhora da resposta imune, pois é capaz de reduzir a produção de radicais livres ou impedir a propagação da oxidação. A microencapsulação dos ativos antioxidantes possibilita maior liberação e absorção a nível intestinal e com isso promove a atenuação do estresse oxidativo, estimulando a redução dos processos inflamatórios e, consequentemente, refletindo positivamente sobre os índices de qualidade de carne (Ornaghi et al. 2020).

Tabela 12 – Concentração dos sistemas enzimáticos intestinais superóxido dismutase, catalase, glutathione transferase, glutathione e taxa de peroxidação lipídica.

Enzima	CN	CP	B150	B300	B450	B600	CV%	ANOVA	L	Q
GSH	624,55	638,64	615,81	542,21	632,57	619,45	19,70	0,445	0,609	0,839
GST	4,50ab	5,00ab	4,35ab	3,95b	6,04a	5,15ab	26,00	0,015	0,069	0,121
CAT	66,76ab	92,48a	59,09ab	58,32b	62,37ab	71,96ab	34,80	0,049	0,672	0,270
LPO	15,22	12,47	15,99	7,85	14,75	9,44	65,20	0,328	0,395	0,534
SOD	4645,83	4916,87	4745,37	4724,26	4759,48	4838,79	12,60	0,981	0,636	0,893

CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; B150 = *Blend* 150 g/t; B300 = *Blend* 300 g/t; B450 = *Blend* 450 g/t; B600 = *Blend* 600 g/t; L = Efeito linear; Q = Efeito quadrático; a, b: indicam diferença estatística na mesma linha ($P \leq 0,05$).

CONCLUSÃO

A suplementação com ácidos orgânicos e óleos essenciais microencapsulados influenciou a estabilidade oxidativa (MDA) e a atividade antioxidante (DPPH) da carne de frangos de corte, impactou os índices de *white striping* (macro), análise de cor, perda de água por descongelamento e as enzimas antioxidantes GST e CAT.

REFERÊNCIAS

- Abdel-Wareth, A. A., Kehraus, S., & Südekum, K. H. (2019). Peppermint and its respective active component in diets of broiler chickens: growth performance, viability, economics, meat physicochemical properties, and carcass characteristics. *Poultry science*, 98(9), 3850-3859.
- Al-Kelabi, T. J. K., Mohamed, M. F., & Al-Karagoly, H. (2020). The impact of sweet basil plant additive on biochemical parameters and organoleptic quality of meat of chicken. *Annals of Tropical Medicine & Public Health*. DOI.
- Alhajj, M. S., Alhobaishi, M., Nabi, A. R., & Al-Mufarrej, S. I. (2017). Effect of Chinese star anise (*Illicium verum* Hook. f) on the blood biochemical parameters and antioxidant status in the serum and tissues of broiler chickens. *Agric. Sci*, 27, 15-23.
- Botsoglou, N. A., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Fletouris, D. J., & Spais, A. B. (2002). Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *British poultry science*, 43(2), 223-230.
- Carocho M, Barreiro MF, Morales P, & Ferreira IC. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Compr Rev Food Sci F* 13(4): 377-399.
- Carvalho, J. C. (2020). Atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos de plantas do cerrado em carne de peito de frango.
- da Nóbrega Santos, E., Feitoza, J. V. F., da Silva Ferreira, V. C., & da Silva, F. A. P. Uso de antioxidantes naturais em carnes e derivados: uma revisão uso de antioxidantes naturales en carne y derivados: una revisión use of natural antioxidants in meat and derivatives: a review.
- de Barros, J. R., Soares, F. M., de Santana Silva, E., & Constant, P. B. L. (2021). Conservação de alimentos pelo uso de aditivos: Uma Revisão. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 37(2).
- Dauksiene, A., Ruzauskas, M., Gruzauskas, R., Zavistanaviciute, P., Starkute, V., Lele, V., ... & Bartkiene, E. (2021). A comparison study of the caecum microbial profiles, productivity and production quality of broiler chickens fed supplements based on medium chain fatty and organic acids. *Animals*, 11(3), 610.
- de Medeiros, L. G., Oba, A., Shimokomaki, M., Pinheiro, J. W., da Silva, C. A., Soares, A. L., ... & de Almeida, M. (2012). Desempenho, características de carcaça e qualidade de carne de frangos de corte suplementados com selênio orgânico. *Semina: Ciências Agrárias*, 33(2), 3361-3369.

Delazio, A., Israr, A., & Klatzky, R. L. (2017, June). Cross-modal correspondence between vibrations and colors. In 2017 IEEE World Haptics Conference (WHC) (pp. 219-224). IEEE.

El-Ashram, S., & Abdelhafez, G. A. (2020). Effects of phytogenic supplementation on productive performance of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 29(4), 852-862.

Ghiasvand, A. R., Khatibjoo, A., Mohammadi, Y., Akbari Gharaei, M., & Shirzadi, H. (2021). Effect of fennel essential oil on performance, serum biochemistry, immunity, ileum morphology and microbial population, and meat quality of broiler chickens fed corn or wheat-based diet. *British Poultry Science*, 62(4), 562-572.

Ibrahim, D., Moustafa, A., Metwally, A. S., Nassan, M. A., Abdallah, K., Eldemery, F., ... & Kishawy, A. T. (2021). Potential application of Cornelian cherry extract on broiler chickens: Growth, expression of antioxidant biomarker and glucose transport genes, and oxidative stability of frozen meat. *Animals*, 11(4), 1038.

İpçak, H. H., & Alçiçek, A. (2018). Addition of Capsicum oleoresin, Carvacrol, Cinnamaldehyde and their mixtures to the broiler diet II: Effects on meat quality. *Journal of Animal Science and Technology*, 60(1), 1-11.

Khatlab, A. D. S. (2019). Uso de dipeptídeo de metionina sobre a morfometria, parâmetros sanguíneos e oxidativos e expressão de genes associados ao transporte de aminoácidos, sistema imune em frangos de corte desafiados por *Eimeria* spp.

Laghouati, O., Arbouche, F., & Arbouche, Y. (2020). Effects of using essential oil of *Lavandula stoechas* in quail feed on growth performance, carcass characteristics, meat quality, and health status. *Veterinary World*, 13(4), 789.

Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, 24(22), 4132.

Luiggi, F. G. G., Pacheco, P. D. G., Racanicci, A. M. C., Muynarsk, E. D. S. M., Sartori, M. M. P., & Sartori, J. R. (2020). O uso da bixina como antioxidante natural em dietas de frangos de corte formuladas com óleo de soja fresco ou oxidado. *Archives of Veterinary Science*, 25(2).

Menconi, A., Kuttappan, V. A., Hernandez-Velasco, X., Urbano, T., Matté, F., Layton, S., ... & Tellez, G. (2014). Evaluation of a commercially available organic acid product on body weight loss, carcass yield, and meat quality during preslaughter feed withdrawal in broiler chickens: a poultry welfare and economic perspective. *Poultry Science*, 93(2), 448-455.

Mir, N. A., Rafiq, A., Kumar, F., Singh, V., & Shukla, V. (2017). Determinants of broiler chicken meat quality and factors affecting them: a review. *Journal of food science and technology*, 54(10), 2997-3009.

Mohamed, A. A., Habib, A. B., Eltrefi, A. M., Shulukh, E. S. A., Abubaker, A. A., Abdelwahid, H. H., ... & Hassoun, S. M. (2018). Effect of dietary supplementation of increasing levels of organic acid mixture on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 11(3), 54-58.

Mudalal, S., Zaazaa, A., & Omar, J. A. (2021). Effects of Medicinal Plants Extract with Antibiotic Free Diets on Broilers Growth Performance and Incidence of Muscles Abnormalities. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 23.

Ornaghi, M. G., Guerrero, A., Vital, A. C. P., de Souza, K. A., Passetti, R. A. C., Mottin, C., ... & do Prado, I. N. (2020). Improvements in the quality of meat from beef cattle fed natural additives. *Meat Science*, 163, 108059.

Park, J. H., & Kim, I. H. (2018). Effects of a protease and essential oils on growth performance, blood cell profiles, nutrient retention, ileal microbiota, excreta gas emission, and breast meat quality in broiler chicks. *Poultry science*, 97(8), 2854-2860.

Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.

Roofchaei, A., Irani, M., Ebrahimzadeh, M. A., & Akbari, M. R. (2011). Effect of dietary oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil on growth performance, cecal microflora and serum antioxidant activity of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 10(32), 6177-6183.

Salles, G. B. C., Boiago, M. M., Silva, A. D., Morsch, V. M., Gris, A., Mendes, R. E., ... & da Silva, A. S. (2019). Lipid peroxidation and protein oxidation in broiler breast fillets with white striping myopathy. *Journal of Food Biochemistry*, 43(4), e12792.

Schafranski, K., Postigo, M. P., Vitali, L., Micke, G. A., Richter, W. E., & Chaves, E. S. (2019). Avaliação de compostos bioativos e atividade antioxidante de extratos de folhas de amoreira preta (*Morus nigra* L.) utilizando planejamento experimental. *Química Nova*, 42, 736-744.

Song, D. J., & King, A. J. (2015). Effects of heat stress on broiler meat quality. *World's Poultry Science Journal*, 71(4), 701-709.

Symeon, G. K., Zintilas, C., Ayoutanti, A., Bizelis, J. A., & Deligeorgis, S. G. (2009). Effect of dietary oregano essential oil supplementation for an extensive fattening period on growth performance and breast meat quality of female medium-growing broilers. *Canadian Journal of Animal Science*, 89(3), 331-334.

Yesilbag, D., Eren, M., Agel, H., Kovanlikaya, A., & Balci, F. (2011). Effects of dietary rosemary, rosemary volatile oil and vitamin E on broiler performance, meat quality and serum SOD activity. *British Poultry Science*, 52(4), 472-482.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A indústria de proteína animal busca a produção de alimentos cada vez mais seguros, em volume e custo acessíveis e livre de antibióticos. Diversos países baniram o uso de medicamentos como promotores de crescimento na produção frangos de corte o que impulsionou as empresas produtoras de aditivos a buscarem alternativas seguras e eficazes para substituir estas moléculas.

Desta forma, a utilização de ácidos orgânicos e óleos essenciais têm demonstrado promissores resultados em substituir os antibióticos promotores de desempenho, apresentando efeitos positivos sobre o desempenho zootécnico e rendimento de carcaça. Além disso, a sinergia relacionada a ação antioxidante dos ácidos orgânicos, atuando como agentes quelantes de metais, com os óleos essenciais, inibindo a oxidação de lipídios, promove a melhoria de índices de qualidade da carne.

A suplementação da dieta com um *blend* microencapsulado a base de formiato de cálcio, ácido cítrico, ácido fumárico, óleo essencial de laranja (*Citrus sinenses*), timol e carvacrol apresentou uma resposta zootécnica dose dependente, principalmente para determinados índices de rendimento de carcaça. Efeitos significativos sobre parâmetros zootécnicos também foram observados em dosagens específicas, além da influência sobre a estabilidade oxidativa, enzimas antioxidantes e impacto em índices de qualidade e atividade antioxidante da carne.

Há uma perspectiva otimista da indústria em relação a utilização desta tecnologia em substituição aos antibióticos promotores de crescimento e novos estudos com o objetivo de se avaliar associações de compostos bioativos com ácidos orgânicos e suas dosagens ideais são necessários para que os produtores de proteína animal tenham acesso a alternativas de promotores de crescimento eficientes, levando ao consumidor final um alimento seguro e livre de contaminantes.