



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU COMO FONTE DE ÁCIDO
ANACÁRDICO NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS
COMERCIAIS**

NÁDIA DE MELO BRAZ

**FORTALEZA - CE
MARÇO - 2015**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU COMO FONTE DE ÁCIDO ANACÁRDICO
NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS

NÁDIA DE MELO BRAZ
ZOOTECNISTA

FORTALEZA - CE
MARÇO - 2015

NÁDIA DE MELO BRAZ

**LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU COMO FONTE DE ÁCIDO
ANACÁRDICO NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas

FORTALEZA - CE

MARÇO – 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- B839l Braz, Nádia de Melo.
Líquido da castanha de caju como fonte de ácido anacárdico na alimentação de poedeiras comerciais / Nádia de Melo Braz. – 2015.
94 f. : il.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, Fortaleza, 2015.
Área de concentração: Nutrição Animal.
Orientação: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.
1. Poedeira comercial. 2. Aves – Alimentação e rações. 3. Ovos – Qualidade. 4. *Anacardium occidentale*. 5. Ácidos orgânicos. 6. Ácidos Anacárdicos. I. Título.

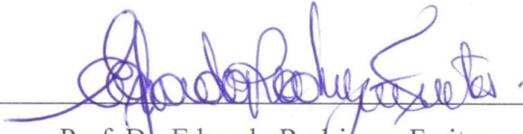
CDD 636.08

NÁDIA DE MELO BRAZ**LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU COMO FONTE DE ÁCIDO
ANACÁRDICO NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS**

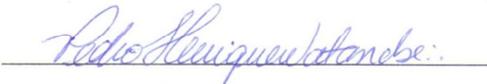
Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Zootecnia.
Área de Concentração: Nutrição Animal

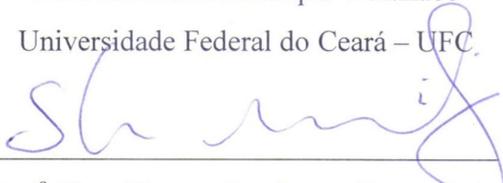
Aprovada em 23/03/2015

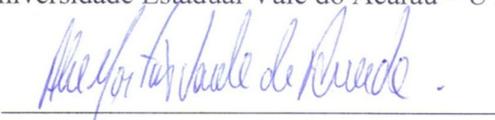
BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof. Dr. Germano Augusto Jerônimo do Nascimento
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe
Universidade Federal do Ceará – UFC


Profª. Dra. Silvana Cavalcante Bastos Leite
Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA


Prof. Dr. Alex Martins Varela de Arruda
Universidade Federal Rural do Semiárido - UFERSA

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

NÁDIA DE MELO BRAZ - Nascida no dia 30 de dezembro de 1979 na cidade de Fortaleza, Ceará. Filha de Zildene de Melo Braz e Epifânio Braz Neto, aprovada no vestibular para o curso de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará no ano 2001, formando-se em 2005. Em 2006 trabalhou na prestação de serviço de acompanhamento zootécnico em granjas avícolas até o ano de 2008. Em 2008 ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, concluindo o curso de mestrado em 2010 na área de Forragicultura e Nutrição Animal. Em 2011, ingressou no Curso de Doutorado do Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, pela Universidade Federal do Ceará, cujo trabalho gerou esta tese.

“No final de nossas vidas não seremos julgados pelos muitos diplomas que recebemos, por quanto dinheiro fizemos ou por quantas grandes coisas realizamos. Seremos julgados pelo: eu tive fome e você me deu de comer; estava nu e você me vestiu; eu não tinha casa e você me abrigou.”

Madre Teresa de Calcutá

A **Deus**, que me deu forças e saúde para realizar mais um projeto;

À minha mãe **Zildene de Melo Braz**, por toda dedicação, amor incondicional, por sempre me incentivar e ser pai e mãe;

Ao meu pai **Epifânio Braz Neto** (*in memoriam*), que é um exemplo de força, coragem e simplicidade, por estar sempre comigo, mesmo estando ao lado de Deus;

Aos meus irmãos **Monalisa de Melo Braz** e **Rafael de Melo Braz**, por serem exemplo de persistência e vitória sem perder a simplicidade;

Ao meu marido **Carlos Alexandre da Costa Ayres**, por estar ao meu lado nas dificuldades do trabalho árduo e nos momentos de cansaço, por ser o meu maior incentivador e por me compreender nos dias em que estive ausente.

À minha filha **Gabriela Braz Ayres**, presente de Deus, que chegou para me mostrar o verdadeiro sentido da vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por sempre iluminar o meu caminho.

À minha mãe (Zildene), aos meus irmãos (Monalisa e Rafael) e aos meus cunhados (Jackson e Janinha) que compreenderam os dias em que estive ausente e os momentos em que eu estava cansada.

Ao meu marido (Alexandre) e à minha filha (Gabriela), por simplesmente me amarem, fazendo-me a pessoa mais feliz desse mundo.

Ao Professor Ednardo Rodrigues Freitas, quem eu muito admiro, pela sua orientação, ensinamentos, paciência, amizade, confiança, compreensão, desafios e todo o apoio, indispensáveis para a condução e finalização deste trabalho, e que contribuiu muito nesta etapa da minha vida e na minha formação profissional.

Ao Setor de Avicultura, representado pelos funcionários Isaías, Claudio, Marcos, Paulo e Maninho que me ajudaram em muitos momentos no período do experimento.

Aos alunos de pós-graduação: Nadja, Patrícia, Danilo, Diego, Davyd, Carlos e Rosa Patrícia pela contribuição durante o experimento. E aos alunos de pós-graduação em bioquímica, Anna Lídia e Paulo, que me ajudaram nas análises bioquímicas.

Aos alunos da graduação que participaram efetivamente no experimento: Jéssica, Mayara, Etho, Amanda e Jaqueline.

Às minhas amigas Leninha, Kélvia, Paula e Raffaella que sempre me incentivaram e estiveram comigo mesmo estando distante.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Ceará – UFC, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado em Zootecnia.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudo e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FUNCAP (Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo financiamento da pesquisa.

Aos laboratórios da UFC: Laboratório de Nutrição Animal (LANA), Laboratório de Carnes e Pescados (LCP), Laboratório de Produtos Naturais (LPN) e ao Laboratório de Proteínas Vegetais de Defesa (LPVD) pela realização das análises químicas.

A todas as pessoas que, de alguma forma, colaboraram para a execução do experimento e me incentivaram a seguir em frente até a conclusão deste trabalho.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO GERAL.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	16
Capítulo I – Referencial Teórico.....	18
Introdução.....	19
Revisão de Literatura.....	21
1. Aditivos antibióticos promotores de desempenho.....	21
2. Ácidos orgânicos.....	23
2.1. Composição e propriedades químicas.....	23
2.2. Ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos.....	24
2.3. Ácidos orgânicos na alimentação de aves.....	26
3. Antioxidantes.....	28
3.1. Sistema de defesa antioxidante.....	30
3.1.1. Sistema enzimático.....	31
3.1.1.1. Integração dos sistemas de defesa enzimáticos.....	33
3.1.2. Sistema não-enzimático.....	34
3.2. Antioxidantes sintéticos.....	34
3.3. Antioxidantes naturais.....	36
3.4. Compostos fenólicos.....	37
3.5. Antioxidantes na alimentação de aves.....	38
4. Considerações gerais sobre o líquido da castanha de caju (LCC).....	41
4.1. Ações biológicas do líquido da castanha de caju (LCC) e do ácido anacárdico.....	42
4.2. Líquido da castanha de caju (LCC) na alimentação de aves.....	45
Referências Bibliográficas.....	46

Capítulo II - Perfil bioquímico sérico, atividade enzimática e peroxidação lipídica em órgãos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo o líquido da castanha de caju.....	58
Resumo.....	59
Abstract.....	60
Introdução.....	61
Material e Métodos.....	62
Resultados e Discussão.....	67
Conclusões.....	72
Referências Bibliográficas.....	72
 Capítulo III - Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras alimentadas com rações contendo o líquido da castanha de caju como fonte de ácido anacárdico.....	76
Resumo.....	77
Abstract.....	78
Introdução.....	79
Material e Métodos.....	80
Resultados e Discussão.....	84
Conclusões.....	89
Referências Bibliográficas.....	90
 CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES.....	94

LISTA DE TABELAS

Capítulo II - Perfil bioquímico sérico, atividade enzimática e peroxidação lipídica em órgãos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo líquido da castanha de caju

	Página
1. Composição das rações experimentais.....	64
2. Perfil sanguíneo bioquímico de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo líquido da castanha de caju (LCC).....	67
3. Níveis de superóxido dismutase (SOD) e de grupos sulfidrílicos não-protéicos (N-SH) no fígado, ovário, magno e útero de poedeiras comerciais alimentadas com rações com líquido da castanha de caju (LCC).....	69
4. Valores de TBARS do soro, fígado, ovário, magno e útero de poedeiras comerciais alimentadas com rações com líquido da castanha de caju (LCC).....	71

Capítulo III - Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras alimentadas com rações contendo líquido da castanha de caju como fonte de ácido anacárdico

	Página
5. Composição das rações experimentais.....	81
6. Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com rações com líquido da castanha de caju (LCC).....	84
7. Característica e qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com rações com líquido da castanha de caju (LCC).....	86
8. Coloração, componentes da cor e valores de TBARS na gema dos ovos de poedeiras alimentadas com líquido da castanha de caju.....	87

LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU COMO FONTE DE ÁCIDO ANACÁRDICO NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS

RESUMO GERAL - A pesquisa teve como objetivo avaliar os parâmetros bioquímicos do sangue, a atividade enzimática, a peroxidação lipídica do fígado e de tecidos do sistema reprodutor (ovário, magno e útero), assim como o desempenho e a qualidade dos ovos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo o líquido da castanha de caju (LCC). Um total de 216 poedeiras comerciais Hisex White foi distribuído ao acaso em seis tratamentos, com seis repetições de seis aves. Os tratamentos consistiram em: ração sem promotor de desempenho (PD); ração com PD e rações sem PD e adição de níveis crescente de LCC (0,25; 0,50; 0,75 e 1,00%). A adição de LCC na ração não influenciou nos parâmetros bioquímicos do sangue (ácido úrico, creatinina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, colesterol total, HDL, LDL e triglicérides), na atividade enzimática (superóxido dismutase e grupos sulfidrílicos não-protéicos) nos órgãos (fígado, ovário, magno e útero), na peroxidação dos lipídeos do soro sanguíneo, fígado, magno e útero, nas variáveis de desempenho e nas características dos ovos. No entanto, os níveis de 0,75% e 1,00% de LCC proporcionaram menor valor de TBARS no ovário das aves, enquanto, o tratamento sem promotor de desempenho proporcionou maior valor. A cor da gema pelo leque colorimétrico foi superior para os tratamentos sem o PD e com 0,75% de LCC na ração e inferior no tratamento com PD. Pela análise de regressão, houve efeito quadrático significativo dos níveis de inclusão de LCC sobre a coloração da gema medida pelo leque colorimétrico da DSM, com o melhor nível estimado para 0,62%. O componente de cor a^* foi superior no nível de 0,50% de LCC, enquanto o tratamento com o PD obteve o menor valor. Foi observado efeito quadrático na oxidação lipídica na gema do ovo recém-posto, atingindo o mínimo de 0,58% de LCC na ração. Na comparação entre as médias o nível de 0,75% de LCC apresentou menor valor de TBARS, enquanto os tratamentos com PD, sem PD e com o nível de 1,00% de LCC apresentaram maiores valores de TBARS. A adição de até 1% do LCC, como fonte de ácido anacárdico na ração das poedeiras, não influencia os parâmetros bioquímicos do sangue, a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH) no fígado, ovário magno e útero, o desempenho e a qualidade de ovos, mas melhora a cor da gema e, a partir da inclusão de 0,75% de LCC, reduz a peroxidação lipídica no

ovário, sendo o nível de 0,75% de LCC efetivo em reduzir a oxidação lipídica das gemas frescas.

Palavras – chave: ácido orgânico, antioxidante natural, desempenho, oxidação lipídica

CASHEW NUT SHELL LIQUID AS A SOURCE OF ANACARDIC ACID IN FEEDS LAYING HENS

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the blood biochemical parameters, the enzymatic activity, lipid peroxidation of liver and tissues of the reproductive system (ovary, magnum, and uterus), as well as the effects of adding the cashew nut shell (CNSL) in the diet of laying hens on performance, quality and stability of lipid eggs. A total of 216 Hisex White commercial laying hens were distributed randomly into six treatments, with six replicates of six birds. Treatments consisted of a diet without performance promoter (PP); a diet with PP; and diets without PP, with addition of increasing levels of CNSL (0.25, 0.50, 0.75, and 1.00%). Addition of CNSL to the diet did not affect the blood biochemical parameters (uric acid, creatinine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, and triglycerides), in the enzymatic activity (superoxide dismutase and non-protein sulfhydryl groups) in the organs (liver, ovary, magnum and uterus), in the peroxidation of lipids from the blood serum, liver, magnum and uterus, in the performance variables and characteristics of eggs. However, the levels of 0.75% and 1.00% CNSL provided a lower TBARS content in the birds' ovary, whereas the treatment without the growth promoter provided a higher value. The color of the yolk was superior to treatment with and without PP CNSL 0.75% in the feed in the bottom and PP treatment. Regression analysis showed a significant quadratic effect of dietary inclusion of CNSL on yolk color measured color fan, with the best estimated level to 0.62%. The color component a* was superior level of 0.50% CNSL, while treatment with PP had the lowest value. Quadratic effect was observed in lipid oxidation in the yolk of the egg station recently, reaching a minimum of 0.58% in the feed LCC. Comparing the average level of 0.75% of CNSL showed the lowest TBARS, while treatments with PP, without PP and the level of 1.00% of LCC had higher TBARS. Addition of up to 1% of the CNSL as a source of anacardic acid in the laying hen diets does not influence their blood biochemical parameters, the activity of the superoxide dismutase enzyme and non-protein sulfhydryl groups in the liver, ovary, magnum, and uterus, but improves the color of egg yolk and that the level of 0.75% of CNSL is effective in reducing lipid oxidation in the ovary and fresh gems.

Keywords: Organic acid, natural antioxidant, performance, lipid oxidation

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Os antibióticos, utilizados com finalidades de melhorar o desempenho animal, têm a eficácia econômica baseada na melhora na produtividade e redução dos custos de produção, garantindo o sucesso da indústria avícola. Entretanto, a pressão de alguns mercados consumidores, que questionam a segurança do uso desses aditivos na alimentação animal e seus possíveis impactos na saúde do consumidor, tem levado a se repensar o uso de antibióticos na alimentação animal.

Normalmente, a retirada dos antibióticos promotores de desempenho de uma dieta acarreta aumento nos custos de produção, decorrente de uma piora na conversão alimentar. Visto que, os patógenos causadores de enfermidades propiciam perda de produtividade, aumento da mortalidade e contaminação de produtos avícolas destinados ao consumo humano e a necessidade em atender ao mercado consumidor, várias pesquisas estão sendo realizadas em busca de produtos alternativos que possam substituir os antibióticos na alimentação animal sem causar perdas de produtividade, possibilitando o desenvolvimento de aves mais saudáveis (Penz *et al.*, 1993). Uma alternativa seria o uso de aditivos naturais com propriedades semelhantes às daquelas dos sintéticos, com eficácia comprovada e resultados econômicos satisfatórios.

O Brasil é conhecido mundialmente por sua biodiversidade e a importância das plantas aqui encontradas para a produção de fármacos com diferentes aplicações. Nesse contexto, destaca-se o líquido da castanha de caju (LCC), composto rico em lipídeos fenólicos não-isoprenoides de origem natural, onde cerca de 90% de sua composição é de ácido anacárdico (derivado do ácido salicílico) e alquilresorcinóis (cardóis e cardanóis) (Mazzetto *et al.*, 2009).

O ácido anacárdico vem sendo estudado e os relatos encontrados na literatura indicam que este composto apresenta várias atividades biológicas, como atividade antitumoral (Kubo *et al.* 1993a), atividade inibidora seletiva contra bactérias gram-positivas (Kubo *et al.*, 1993b) e contra *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus* (Kubo *et al.*, 2003), atividade antioxidante na prevenção dos danos oxidativos na mitocôndria do fígado (Toyomizu *et al.*, 2000) e inibição da geração dos superóxidos e atividade da xantina oxidase (Trevisan *et al.*, 2006). Para uso na avicultura, Toyomizu *et al.* (2003) demonstraram efeito benéfico do ácido anacárdico na prevenção das lesões provocadas pela coccidiose. Entretanto, ainda não se conhece a viabilidade de uso e os

efeitos desse ácido orgânico no desempenho zootécnico das aves, na utilização dos nutrientes da ração e na qualidade da carne e dos ovos.

Assim, no primeiro capítulo desse trabalho, apresentamos uma revisão de literatura sobre os aditivos antimicrobianos, ácidos orgânicos, antioxidantes e considerações gerais sobre o líquido da castanha de caju (LCC). No segundo capítulo, apresenta-se um estudo dos parâmetros bioquímicos do sangue, assim como, a atividade enzimática e a peroxidação lipídica do fígado e tecidos do sistema reprodutor (ovário, magno e útero) de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo o LCC. No terceiro capítulo é apresentado um estudo dos efeitos da inclusão LCC na ração de poedeiras comerciais sobre o desempenho e a qualidade dos ovos.

CAPÍTULO I

Referencial Teórico

INTRODUÇÃO

Os antibióticos vêm sendo usados como promotores de desempenho na alimentação de aves há muitos anos. Entretanto, nos últimos anos seu uso vem sendo questionado, a ponto de alguns países exigirem a retirada desses aditivos da ração das aves. Nessa nova condição, para a produção de aves, a indústria de aditivos tem buscado e proposto muitas soluções, sendo o uso de aditivos naturais uma das mais promissoras.

A planta *Anacardium occidentale* L., pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida popularmente como cajueiro. É originária do Brasil, e utilizada na medicina tradicional, principalmente no nordeste brasileiro com efeitos terapêuticos. Esta planta tem sido amplamente utilizada na medicina popular no Brasil, Índia e África por tratar inflamações, doenças gastrointestinais e hipertensão arterial (Carvalho *et al.*, 2011). Diversos estudos avaliaram os efeitos biológicos e o potencial farmacêutico de extratos de cajueiro. Melo *et al.* (2006) confrontaram o extrato da casca do caule de *Anacardium occidentale* L. com três espécies de *Streptococcus* isoladas de biofilme dental, concluindo que o extrato pode ser usado terapêuticamente na odontologia como agente antibacteriano. Gonçalves *et al.* (2005) avaliaram a atividade antibacteriana com extrato da castanha do caju frente a 10 linhagens de bactérias em que 4 (*Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp. Coagulase) foram sensíveis ao extrato, e as demais (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*) se apresentaram resistentes ao extrato da castanha do caju.

Durante o processo industrial de obtenção da castanha de caju para a obtenção da amêndoa, é isolado um líquido viscoso chamado líquido da castanha de caju (LCC). O LCC apresenta compostos polifuncionais que tem grande aplicação na indústria de inseticidas, germicidas, fungicida, antioxidantes, material de atrito e plastificantes (Carvalho *et al.*, 2011). Porém, é considerado um subproduto de agronegócio do caju, de baixo valor agregado.

O LCC representa cerca de 25% do peso da castanha, e é uma das fontes mais ricas em lipídeos fenólicos não-isoprenóides, sendo o principal o ácido anacárdico. Nos últimos anos, o ácido anacárdico tem sido estudado por possuir uma série de atividades biológicas, tais como: atividade antitumoral, antiacne, moluscocida, habilidade em inibir as enzimas tirosinase, prostaglandina sintase e lipooxigenase, além de possuir

atividades antimicrobiana e antioxidante, o que o torna uma possível fonte natural para ser utilizado na nutrição animal (Himejima e Kubo, 1991; Prithiviraj *et al.*, 1997; Paramashivappa *et al.*, 2001; Correia *et al.*, 2006; Trevisan *et al.*, 2006; Morais *et al.*, 2010).

Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da adição de líquido da castanha de caju (LCC) como fonte de ácido anacárdico na ração de poedeiras comerciais.

REVISÃO DE LITERATURA

1. Aditivos antibióticos promotores de desempenho

Os aditivos antibióticos são os promotores de desempenho e de eficiência alimentar de uso mais generalizado na produção animal. Esses produtos têm sido utilizados na indústria avícola durante décadas como melhoradores de desempenho, com os objetivos de incrementar a produtividade e promover a saúde dos animais criados sob condições cada vez mais intensivas (Cromwell, 1991; Yegani e Korver, 2008).

A descoberta do benefício do uso de antibióticos como promotores de desempenho ocorreu nos anos 50, quando os pesquisadores observaram que adição de antibióticos em doses subterápicas minimizava os efeitos adversos provocados pelo estresse, pelas más condições sanitárias e pelas criações em altas densidades de alojamento. Os efeitos benéficos do uso dos antibióticos como melhoradores de desempenho asseguravam uma maior produtividade, melhorava o desempenho, a eficiência na utilização das dietas, a saúde e a resistência a doenças e reduzia a mortalidade. Assim, os antibióticos, até então utilizados exclusivamente para o tratamento de infecções, passaram a ser utilizados na alimentação animal para manter a qualidade do trato gastrintestinal e foram denominados de promotores de desempenho ou de melhoradores de desempenho (Montagne *et al.*, 2003).

Os modos de ação dos antibióticos promotores de desempenho não estão completamente esclarecidos, porém sabe-se que a ação dos antibióticos ocorre ao nível do lúmen intestinal, exercendo ali sua função primordial. Dessa forma, de acordo com Mellor (2000), o único aspecto de concordância entre os pesquisadores é que os antibióticos agem sobre a microbiota como bactericidas (promovendo a morte do agente) ou bacteriostáticos (promovendo a parada do seu crescimento e reprodução).

Depois de muitos anos, o uso constante dos aditivos antibióticos passou a ser visto como fator de risco para a saúde humana. As principais contestações em relação ao uso desses aditivos estão relacionadas com potenciais impactos na saúde pública, principalmente no que se refere: a) a presença de resíduos dos próprios aditivos ou seus metabólitos nos produtos de origem animal (carne, leite ou ovos); b) a seleção de estirpes resistentes dentro de grupos de bactérias que são patógenas primárias ou

oportunistas para humanos e c) a contaminação do solo e água, em que alguns produtos podem ser excretados pelos animais e, via adubo ou dejetos (Costa, 2009).

Embora não tenha sido comprovada cientificamente a possível resistência bacteriana cruzada entre humanos e animais, autoridades de saúde pública no mundo todo vêm determinando a redução na utilização de antibióticos. Com isso, surgiram restrições e novas regulamentações quanto ao uso de antibióticos e quimioterápicos na alimentação animal.

A Suécia, a Dinamarca e a Finlândia foram os primeiros países a proibirem a utilização destes na alimentação animal. Os antibióticos e quimioterápicos somente poderiam ser incorporados aos alimentos destinados aos animais com o propósito curativo de doenças e não com o objetivo de melhoria do crescimento.

A União Européia, em 1999, proibiu somente o uso de seis antibióticos utilizados na produção animal: bacitracina de zinco, espiramicina, virginamicina, tilosina, carbadox e olaquinox. Já em 2006 o uso dos antibióticos e quimioterápicos como promotores de desempenho foi proibido em toda a União Européia.

No Brasil, o uso de alguns antibióticos como promotores do crescimento começou a ser proibido em 1992 (Portaria DAS/MA Nº 159 de 23 de junho de 1992) e em 1998 (Portaria SVS/MS Nº 819 de 16 de outubro de 1998). Entretanto, atualmente, é possível utilizar 17 antibióticos como aditivo, e aproximadamente 70 são liberados para uso terapêuticos, matafiláticos ou profiláticos. Segundo a Secretaria de Defesa Agropecuária, os antibióticos autorizados para uso exclusivo em rações para poedeiras são bacitracina de zinco e bacitracina de metileno dissacilato, sulfato de colistina, cloridrato de clorexidina, enramicina, halquinol e fosfato ou tartarato de tilosina.

Diante da perspectiva do completo banimento dos aditivos antibióticos como promotores de desempenho, os prejuízos decorrentes desta situação têm sido consideráveis. Desta forma, é necessária a realização de estudos que visa promover estratégias alternativas aos antibióticos promotores de desempenho com o objetivo de minimizar as perdas econômicas advindas de uma possível redução no desempenho animal.

2. Ácidos orgânicos

Com a restrição ao uso de antibióticos promotores de desempenho, foram estudadas estratégias nutricionais para auxiliar na prevenção e minimizar as infecções por bactérias patogênicas na produção animal. Nesse sentido, os ácidos orgânicos vêm se destacando como uma possível alternativa aos antibióticos (Lückstädt, 2007).

Segundo Garcia *et al.* (2000), a acidificação dos alimentos tem potencial para controlar bactérias, podendo melhorar o crescimento e a eficiência alimentar, eliminando microrganismos que competem por nutrientes. Benefício semelhante é atribuído aos antibióticos; entretanto, os ácidos orgânicos não deixam resíduos na carcaça e não promovem o aparecimento de bactérias resistentes. Portanto, os ácidos orgânicos se usados corretamente junto com medidas nutricionais, de manejo e biossegurança, podem ser uma ferramenta para manter a saúde do trato intestinal das aves, melhorando o rendimento zootécnico sem risco de resíduos na carne e ovos como os antibióticos (Partanen e Mroz, 1999).

2.1. Composição e propriedades químicas

Os ácidos orgânicos podem ser chamados ácidos graxos voláteis, ácidos graxos de cadeia curta ou ácidos carboxílicos. São substâncias que têm uma ou mais carboxilas (R-COOH) na molécula que permanecem estáveis no trato gastrointestinal dos animais (Hart e Schuetz, 1972). No entanto, nem todas essas substâncias apresentam atividade antimicrobiana. Aquelas associadas com atividade antimicrobiana são os ácidos de cadeia curta (C1-C7), como o fórmico, o acético, o propiônico e o butírico, o láctico, o málico, o tartárico e o cítrico. Em geral, quando o termo é utilizado em nutrição animal refere-se a ácidos fracos de cadeia curta, que produzem quantidade de prótons por moléculas ao se dissociarem.

Os ácidos orgânicos são amplamente distribuídos na natureza, sendo constituintes das células vegetais e dos animais. Também são transformados por meio da fermentação de carboidratos através das bactérias anaeróbicas localizadas nas porções do trato gastrointestinal dos animais e através das bactérias lácticas, que estão em maiores concentrações no papo, moela e duodeno (Gonzales, 2004). Podem ser encontrados na forma de sais, apresentando menor odor indesejável e maior facilidade de manuseio na

fabricação das rações por serem sólidos, menos voláteis e menos corrosivos (Costa, 2009).

Durante muitas décadas, os ácidos orgânicos têm sido usados para controlar eficazmente o crescimento microrganismos dos alimentos baixando o pH (Murphy *et al.*, 2006). Na legislação de alimentação estão inscritos como conservantes, mas os seus efeitos positivos sobre a saúde animal e desempenho, quando adicionadas em quantidades suficientes na ração, são também apresentados na literatura (Gama *et al.* 2000; Bonato *et al.*, 2009; Youssef *et al.*, 2013). Os mais utilizados na avicultura e na suinocultura são o ácido acético, ácido benzóico, ácido cítrico, ácido fórmico, ácido fumárico e o ácido propiônico, que são rapidamente absorvidos pela mucosa intestinal e apresentam baixa toxicidade e solubilidade em água.

2.2. Ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos

Os ácidos exercem efeitos antimicrobianos de diferentes formas. Primeiro, por meio da redução do pH do meio externo e, segundo, por meio da ação da forma não dissociada, dependente da dissociação de suas carboxilas (Cherrington *et al.*, 1991; Roth, 2000). Porém, o efeito antimicrobiano dos ácidos orgânicos ocorre principalmente pela ação da forma não dissociada e não pela redução do pH extracelular.

Os ácidos orgânicos podem se apresentar em duas formas: não dissociada (RCOOH) ou dissociada (COOH) e esse equilíbrio é medido pelo pKa (potencial de dissociação), que indica o pH onde 50% do ácido se encontram na forma dissociada (Leny, 2005). A ação bacteriostática primária (inibição ou retardamento do crescimento de cepas selecionadas) ocorre pela redução do pH da dieta (Silva, 2002) e pela capacidade de se dissociarem, em função do pH do meio e do pKa do ácido.

Em meio ácido, a maior parte dos ácidos está na forma não-dissociada, permitindo à penetração do ácido através da membrana lipídica da célula bacteriana. Uma vez internalizado e colocado em pH neutro do citoplasma celular bacteriano, o ácido orgânico se dissocia em ânions (COOH⁻) e prótons (H⁺), reduzindo o pH citoplasmático. Na célula, a porção aniônica do ácido danifica a estrutura do DNA interferindo na replicação protéica e, conseqüentemente, as bactérias não conseguem mais dividir-se ou acabam morrendo. Já a porção catiônica reduz o nível do pH na célula, obrigando a bactéria a utilizar sua energia para liberar os prótons, diminuindo o crescimento celular microbiano e levando a uma exaustão bacteriana (Cherrington *et al.*,

1991; Gauthier, 2002). Podem também comprometer outros processos vitais, como o transporte de substrato e o desacoplamento da fosforilação oxidativa com o sistema de transporte de elétrons. A maior ou menor atividade inibitória da forma não dissociada depende em primeiro lugar da capacidade desta atravessar a membrana plasmática e exterior da bactéria, portanto, as moléculas menores e de caráter hidrofóbico são as mais eficientes.

O potencial de dissociação do ácido é expresso em valores de pKa, onde Ka é a constante de dissociação ($Ka = \frac{[R-COO^-][H^+]}{[RCOOH]}$) e pKa representa $-\log$ de Ka. Este valor representa o ponto de pH do meio em que há equilíbrio entre as formas dissociada e não dissociada do ácido, de forma que o valor de pKa é o pH ao qual as concentrações de ácido e de ânions são iguais (Lückstädt, 2007). Dessa forma, a eficiência do ácido na inibição de microrganismos depende de seu valor de pKa que é o pH no qual 50% do ácido está dissociado.

Os ácidos orgânicos com valores elevados de pKa são conservantes mais efetivos e sua atividade antimicrobiana é geralmente melhorada com o aumento do comprimento da cadeia carbônica e com o nível de insaturação. Portanto, os ácidos fracos são medidos na escala de pKa, em que quanto menor for o valor desta escala, maior é a capacidade do ácido em diminuir o pH do meio (Lückstädt, 2007). Além disso, Baird-Paker (1980) afirma que um valor de pH mais baixo que o pKa do ácido aumenta a proporção de moléculas não-dissociadas, aumentando, assim, sua eficiência como agente antimicrobiano.

A absorção do ácido depende do seu pKa e do pH do lúmen intestinal. Quando o pH do lúmen é menor que o pKa dos ácidos, eles são rapidamente absorvidos. No trato digestório, ácidos orgânicos não dissociados são absorvidos pelo epitélio intestinal, por difusão passiva, através do gradiente eletroquímico favorável entre o lúmen e as células epiteliais (Partanen e Mroz, 1999).

A eficiência dos ácidos orgânicos sobre bactérias patogênicas depende de seu tempo de exposição, da concentração e do ácido utilizado, da composição da dieta basal e da idade do animal. Bactérias gram-negativas são sensíveis aos ácidos com número de carbonos inferior a oito e bactérias gram-positivas são mais sensíveis quanto maior o comprimento da cadeia carbônica dos ácidos (Cherrington *et al.*, 1991). Dessa forma, há falta de consistência nos resultados dos ácidos orgânicos devido à falta de controle das variáveis intervenientes, tais como: pH do trato digestivo, capacidade tampão dos

ingredientes da dieta, presença de outros antimicrobianos na dieta, condição higiênica do ambiente produtivo e heterogeneidade da flora intestinal (Dibner e Richards, 2005)

2.3. Ácidos orgânicos na alimentação de aves

A utilização dos ácidos orgânicos iniciou-se com as pesquisas de métodos de preservação de cereais colhidos com alto teor de umidade, sendo constatado que o uso de ácidos prolonga o período de armazenamento (Ricke, 2003). Assim, nos últimos anos, vários ácidos orgânicos e combinações têm sido investigados por apresentar uma possível atividade bactericida em rações, ingredientes e trato gastrointestinal do animal.

Segundo Albuquerque *et al.* (1998), a adição de ácidos orgânicos às rações, principalmente, os ácidos graxos de cadeia curta, tem reduzido as infecções por salmonelas em frangos. A efetividade deste tratamento é variável e depende do nível inicial da contaminação. Contudo, há dúvidas entre os pesquisadores sobre a eficácia dos ácidos com a descontaminação da ração, uma vez que estes têm pouca atividade em rações secas, exercendo suas atividades mais eficientemente após a ingestão e hidratação (Black *et al.*, 2006). Porém, na literatura tem-se demonstrado efeitos positivos dos tratamentos com esses aditivos químicos (Albuquerque, 1998).

Faria *et al.* (2009) observaram que o ácido fumárico promoveu redução do pH da ração, podendo contribuir para a inibição do desenvolvimento de microrganismos indesejáveis. Rezende *et al.* (2008) contaminaram a ração com *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium* e trataram com ácido acético em cinco diferentes concentrações (0, 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%). Os autores verificaram que a concentração de 1,5%, favoreceu a redução de *Salmonella sp.*, porém não foi eficiente para a eliminação em nenhuma das concentrações. Enquanto Oliveira (1996) verificou que a combinação de ácido fórmico + propiônico (70:30) em inclusão de 0,8% na ração foi efetiva em reduzir a contaminação por *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium* de rações para frangos de corte.

Além da redução de microrganismos na ração e ingredientes, os ácidos orgânicos promovem efeitos no trato intestinal, reduzindo o pH no estômago e no intestino delgado, que inibe a proliferação e/ou colonização de microrganismos indesejáveis no trato gastrintestinal, promovendo um impacto direto no metabolismo animal.

Flores *et al.* (2012) infectaram frangos de corte com *Salmonella enteritidis* e em seguida trataram essas aves com ácidos orgânicos em diferentes concentrações

administrados via água e ração durante 2 e 7 dias, respectivamente, antes do abate, e constaram que aos 35 dias de idade houve uma redução na presença de *Salmonella enteritidis* em cecos das aves tratados com ácidos orgânicos tanto via água como ração quando utilizados nas concentrações de 1000 ppm e 500 ppm respectivamente. Pickler *et al.* (2012) observaram que, independente da via de administração, os ácidos orgânicos reduzem significativamente a excreção de *Salmonella enteritidis* em papo e ceco de frangos, porém são pouco efetivos no controle de *sorovar minnesota*. Vale *et al.* (2004) também verificaram redução de *Salmonella* com a utilização de 1% da mistura dos ácidos fórmico e propiônico na ração de frangos de corte.

No metabolismo intermediário do organismo animal, os ácidos orgânicos podem atuar fornecendo energia (Gonzales, 2004). Os ácidos de cadeia curta podem ser usados para a geração de ATP no ciclo de ácido cítrico onde, após absorvidos, podem ser oxidados a acetil-CoA ou sintetizados metabolicamente a partir de acetil-CoA.

Segundo Viola e Vieira (2003), os ácidos cítrico e fumárico contribuem diretamente para a produção de energia do organismo do animal como intermediários no ciclo de Krebs. Runho *et al.* (1997) constataram aumento da energia metabolizável (EMAn) em rações suplementadas com ácido fumárico para galos. Os autores observaram que a adição de 1,0% de ácido fumárico na ração proporcionou aumento de 1,06% na EMAn, em relação à ração isenta de ácido.

Os ácidos orgânicos também podem apresentar efeitos positivos na morfologia intestinal. Segundo Vattay *et al.* (1988), os ácidos orgânicos podem aumentar a produção de muco, seja pela estimulação dos receptores químicos conectados aos nervos colinérgicos ou por efeito direto nas células caliciformes. A maior secreção de muco promove a proteção da parede intestinal contra agentes agressores da dieta, ou mesmo bactérias patogênicas, reduzindo sua presença no intestino. Os ácidos podem, ainda, estimular a proliferação de enterócitos, sugerindo melhora na capacidade de absorver os nutrientes.

Segundo Leeson *et al.* (2005), os ácidos acético, propiônico e butírico têm ação trófica sobre a estrutura e o desenvolvimento intestinais, aumentando o tamanho dos vilos e a superfície de absorção. A adição de 0,2% de ácido butírico na dieta de frangos de corte resultou em maiores vilosidades e menor profundidade de criptas quando comparadas ao tratamento do controle negativo. Viola e Vieira (2007) comprovaram que a utilização de uma mistura dos ácidos orgânicos (lático, fórmico, cítrico, acético e benzoico) aumentou significativamente a altura das vilosidades e reduziu o peso do

intestino, devido a redução significativa da profundidade da cripta. Por outro lado, Maiorka *et al.* (2004), observaram que a mistura dos ácidos (fumárico, láctico, cítrico e ascórbico) não apresentou nenhum efeito sobre a *morfologia* intestinal das aves.

Bonato *et al.* (2009) verificaram a associação de 400 g/ton da mistura de ácidos orgânicos e 150 g/ton de extrato vegetal pode ser recomendada para melhorar o desempenho das poedeiras. No entanto, o fornecimento isolado ou associado destes aditivos não alterou a qualidade dos ovos de poedeiras comerciais em final de ciclo de produção. Gama *et al.* (2000) observaram que a adição da mistura de ácidos orgânicos apresentou um efeito positivo sobre a produção de ovos e peso das aves, todavia, não interferem na qualidade interna dos ovos e no peso dos ovos. Souza *et al.* (2001), avaliando a influência do ácido ascórbico sobre a qualidade de ovos brancos e marrons mantidos sob condições de ambiente por um período de 28 dias, observaram que a suplementação deste não foi suficiente para diminuir a perda de qualidade dos ovos.

Com base em todos esses benéficos, espera-se que o uso de ácidos orgânicos melhore o desempenho zootécnico das aves. No entanto, muitas vezes os efeitos dos ácidos orgânicos sobre o desempenho das aves sejam inconscientes, devido a fatores como a necessidade de se adequar a dose de cada ácido ou mistura destes frente à diversidade de condições que se apresentam nas criações de aves e o uso de baixas ou elevadas dosagens.

3. Antioxidantes

Os antioxidantes são empregados pela indústria de alimentos com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos (Ramalho e Jorge, 2006).

Do ponto de vista químico, os antioxidantes são compostos aromáticos que contêm, no mínimo, uma hidroxila. Em um sistema biológico, um antioxidante pode ser definido como qualquer substância que, quando se apresentam em baixas concentrações em relação à de um substrato oxidável, atrasa ou evita a oxidação do referido substrato. O substrato oxidável pode ser qualquer molécula que se encontra nos alimentos ou materiais biológicos, incluindo hidratos de carbono, DNA, lipídeos e proteínas.

Os antioxidantes apresentam variação tanto na sua estrutura química quanto nos seus mecanismos de ação.

Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação. Esses antioxidantes reagem com os lipídeos e os radicais peróxidos, em que o átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres ($R\bullet$ e $ROO\bullet$) com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas, formando espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte ($A\bullet$) procedente do antioxidante. Assim, estes radicais, estabilizados por ressonância, não têm a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (Shahidi e Zhong, 2005; Ramalho e Jorge, 2006). Os principais e mais conhecidos antioxidantes deste grupo são os polifenóis, como butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propil galato (PG), que são sintéticos, e tocoferóis, que são naturais. Estes últimos também podem ser classificados como antioxidantes biológicos.

Os antioxidantes secundários também são classificados como preventivos. Eles oferecem a sua atividade antioxidante através de vários mecanismos para diminuir a taxa de reações de oxidação. A principal diferença entre esses antioxidantes com os primários é que os antioxidantes secundários não convertem os radicais livres em moléculas estáveis (Shahidi e Zhong, 2005). Eles agem por uma variedade de mecanismos incluindo a ligação com íons metálicos, a redução de oxigênio, a conversão de hidroperóxidos a espécies não-radicaais, a absorção de radiação ultravioleta ou a desativação do oxigênio singlete.

Os antioxidantes removedores de oxigênio são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis tornando-os, conseqüentemente, indisponíveis para atuarem como propagadores da autooxidação (Ramalho e Jorge, 2006). Um pré-requisito para este tipo de antioxidante é a apresentação de seletividade em relação ao oxigênio, aumentando dessa forma, o tempo de vida do composto a ser protegido. O ácido ascórbico, seus isômeros e seus derivados são os melhores exemplos deste grupo, pois agem como agente redutor e como um eliminador de oxigênio. Entretanto, o ácido ascórbico pode atuar também como sinergista na regeneração de antioxidantes primários.

Os antioxidantes sinergistas correspondem a uma ação cooperativa, protetora e estabilizante de uma mistura de antioxidantes, quando o efeito total da mistura é maior que a ação do componente mais efetivo, em concentração igual à concentração total dos componentes na mistura. Por exemplo, a combinação de ácido L-ascórbico e os

antioxidantes primários como α - tocoferol torna um efeito sinérgico que resulta no sistema de reciclagem de vitamina E (Noguchi e Niki, 2000).

Os agentes quelantes/sequestrantes complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove a ação de complexação (Ramalho e Jorge, 2006). Segundo Graf e Eaton (1990), os agentes quelantes podem exercer atividade antioxidante por ocupação de todos os sítios de coordenação do metal, e formação de complexos metálicos insolúveis, impedindo interações entre metais e os lipídeos ou intermediários de oxidação (por exemplo, peróxidos). Os mais comuns são ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais de ácido etileno diamino tetra acético - EDTA (Ramalho e Jorge, 2006). Porém, a atividade do agente quelante depende do pH e da presença de outros íons quelatos.

Os antioxidantes biológicos são substâncias que podem remover oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício. Estão incluídos várias enzimas, como são glutathione peroxidase, catalase, superóxido dismutase (Valko *et al.*, 2006) e glutathione (Dalton *et al.*, 2004; Ramalho e Jorge, 2006). Entretanto, dentre os antioxidantes biológicos de baixo peso molecular, podem ser destacados os carotenóides, a bilirrubina, a ubiquinona e o ácido úrico. Porém, as mais importantes micromoléculas no combate ao estresse oxidativo são os tocoferóis, o ácido ascórbico (Kojo, 2004; Barreiros *et al.*, 2006) e os flavonoides (Valko *et al.*, 2006).

Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonoides e derivados de ácido cinâmico (Wanasundara e Shahidi, 2005).

3.1. Sistema de defesa antioxidante

Segundo Vannucchi *et al.* (1998), os radicais livres (especialmente $O_2\cdot$) e outras espécies reativas de oxigênio (H_2O_2) são continuamente produzidos *in vivo*. Diante da grande diversidade de produção desses radicais livres susceptíveis a oxidação, as células do animal desenvolveram um elaborado mecanismo de defesa celular denominado sistema de defesa antioxidante.

O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres ou das espécies reativas não-radicaais

(Barbosa *et al.*, 2011). Tais ações podem ser alcançadas por meio de diferentes mecanismos de ação: impedindo a formação dos radicais livres ou espécies não-radicaais (sistemas de prevenção), impedindo a ação desses (sistemas varredores) ou, ainda, favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas - sistemas de reparo (Koury e Donangelo, 2003).

Esse sistema é dividido em enzimático (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e não-enzimático, onde o não-enzimático pode ter origem endógena ou dietética (Nordberg e Arnér, 2001; Barbosa *et al.*, 2011).

3.1.1. Sistema enzimático

O sistema enzimático é a primeira linha de defesa antioxidante, pois evita o acúmulo de ânion radical superóxido e do peróxido de hidrogênio. Nesse sistema inclui as enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPx). Essas enzimas agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e espécies não-radicaais, envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com propagação e amplificação do processo e, conseqüentemente, com a ocorrência de danos oxidativos (Barbosa *et al.*, 2011).

a) Superóxido dismutase (SOD)

A SOD faz parte de um grupo de metaloenzimas abundantes em células aeróbicas. Constitui um mecanismo rápido de resposta à formação do radical superóxido e está presente em todos os organismos eucarióticos e até mesmo em bactérias, sendo uma das mais importantes do sistema enzimático. Ela é responsável por catalisar a dismutação de dois radicais superóxidos em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio (Halliwell e Gutteridge, 2000) que é menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas, como a catalase e glutathione peroxidase.

A atividade das enzimas em questão muitas vezes depende da participação de cofatores enzimáticos, especialmente antioxidantes de origem dietética. Tais cofatores podem diferir de acordo com os compartimentos celulares de ação das enzimas. Assim, a SOD pode ser encontrada sob duas formas que diferem entre si pelo sítio ativo e pela localização celular: no citoplasma, é dependente de cobre e zinco (CuZnSOD),

enquanto na matriz mitocôndria, necessita do manganês como cofator (MnSOD) (Barbosa *et al.*, 2011).

A forma que contém cobre e zinco, denominada de superóxido dismutase cobre-zinco dependente (CuZnSOD), é muito estável e parece estar presente em praticamente todas as células eucarióticas (Valko *et al.*, 2006). É constituída de duas subunidades protéicas idênticas, com um átomo de cobre e um de zinco em cada uma delas. O Zn não funciona no sítio catalítico, mas aparece para estabilizar a enzima (Halliwell & Gutteridge, 2000). A superóxido dismutase dependente do manganês (MnSOD) é uma proteína de cor rosa que contém manganês nos sítios ativos. A sua atividade diminui em pH alcalino.

A atividade da MnSOD em relação a CuZnSOD depende do tecido e das espécies onde atuam. A remoção do Mn dos sítios ativos causa perda da atividade catalítica, não podendo ser repostos por nenhum íon de transição, pois perde a sua atividade funcional. As sequências de aminoácidos de todas as MnSOD, em todas as espécies, são parecidas e não estão relacionadas com a CuZnSOD. Entretanto, as diferentes formas de SOD catalisam a mesma reação, a de dismutação do radical superóxido (Halliwell e Gutteridge, 2000).

b) Catalase (CAT)

A catalase é uma hemoproteína e está presente na maioria das células aeróbicas, sendo que em animais se encontra principalmente no fígado, rins e eritrócitos. Órgãos como cérebro, coração e músculo esquelético contêm, no entanto, pequenas quantidades da enzima (Halliwell e Gutteridge, 2000).

A atividade da catalase em animais e plantas encontra-se em organelas subcelulares unidas por uma membrana conhecida peroxissoma. A mitocôndria e o retículo endoplasmático contêm pouca ou nenhuma catalase. Dessa forma, por não possuírem peroxissomas, alguns órgãos estão mais expostos aos danos provocados pela produção de espécies reativas de oxigênio, como coração, pulmão e cérebro.

A principal função dessa enzima é catalisar a redução do peróxido de hidrogênio a água e oxigênio molecular. Entretanto, para ativar esta enzima é necessária a presença de NADPH (Ferreira e Matsubara, 1997; Vannucchi *et al.*, 1998; Nordberg e Arnér, 2001).

Miranda *et al.* (1996) afirmam que quando o peróxido se encontra em altas concentrações a catalase age principalmente catalisando a transformação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Em baixas concentrações de peróxido a catalase funciona como uma peroxidase oxidando um composto doador de hidrogênio, como metanol, etanol ou ácido fórmico.

c) **Glutationa Peroxidase (GPx)**

A glutaciona peroxidase é um tripeptídeo formado por cisteína, glutamato e glicina. Esta enzima é bastante particular no que se refere à sua constituição, pois incorporam um resíduo de selenocisteína no seu sítio ativo, portanto, é selênio-dependente. É encontrada intracelularmente em altas concentrações, essencialmente em todos os organismos aeróbicos. Possui alta atividade no fígado, moderada atividade no coração, pulmão e cérebro, e baixa atividade nos músculos. Segundo Miyamoto *et al.* (2003), a glutaciona peroxidase (GPx) está localizada no citosol e na matriz mitocondrial celular.

A glutaciona (GSH) atua como co-substrato da glutaciona peroxidase, com a propriedade de doador de elétrons. A enzima GPx catalisa a redução do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos pela glutaciona reduzida (GSH), levando à formação de glutaciona oxidada (GSSG) e água.

Esse processo catalítico é diretamente dependente da redução da glutaciona oxidada pela enzima glutaciona redutase (GR), onde os sítios ligantes para GSSG estão situados na interface das duas subunidades que constituem a estrutura quaternária da GR, sendo que cada uma tem um domínio distinto com um sítio ligante para o NADPH (Huber *et al.*, 2008).

3.1.1.1. Integração dos sistemas de defesa enzimáticos

A integração dos sistemas de defesa enzimáticos ocorre por meio da reação de dismutação, onde a superóxido dismutase (SOD) catalisa a geração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a partir do radical superóxido ($O_2\bullet$). As enzimas catalase (CAT) e glutaciona peroxidase (GPx) se integram para impedir o acúmulo de H_2O_2 que, apesar de não ser um radical livre, é igualmente reativo e capaz de promover danos potenciais. O acúmulo dessa espécie reativa (H_2O_2) possibilita, por meio das reações de *Fenton* e

Haber-Weiss, a geração do radical hidroxila ($\text{OH}\bullet$), contra o qual não existe defesa enzimática. A GPx reduz o H_2O_2 (e outros peróxidos) à água, utilizando a glutathiona reduzida (GSH), que o faz à custa da conversão da glutathiona reduzida (GSH) em oxidada (GSSG). No entanto a GSSG é reduzida de volta para GSH por GSH redutase (GSH-Rd) utilizando equivalentes redutores de NADPH. A redução da GSSG ajuda a evitar a oxidação de proteínas (proteína tiol formação). Assim, é de extrema importância a ação da glutathiona redutase (GRd), responsável pela recuperação da glutathiona reduzida (GSH), possibilitando a manutenção da integralidade do ciclo redox da glutathiona e, conseqüentemente, do equilíbrio adequado entre os sistemas de defesa enzimáticos (Iqbal *et al.*, 2002; Barbosa *et al.*, 2011).

3.1.2. Sistema não-enzimático

As defesas não-enzimáticas são consideradas substâncias essenciais, quimicamente consumidas durante o processo, obtidas de fontes exógenas e não-sintetizadas pelas células na ausência de moléculas precursoras (Nogueira *et al.*, 2010; Barbosa *et al.*, 2011).

O sistema antioxidante não enzimático é formado por muitas substâncias, com destaque para a glutathiona (GSH), principal composto antioxidante intracelular, vitaminas (vitamina E e vitamina C), além dos carotenóides - β -caroteno, licopeno e luteína (Berger, 2005) e metais de transição.

Os metais de transição (Zn, Cu, Se e Mg) são potenciais formadores de espécies reativas através da reação com outros compostos, uma vez que sofrem reações redox. Dessa forma, há a necessidade de serem transportados associados a proteínas, impedindo que essas reações ocorram (Vasconcelos *et al.*, 2007).

Esse sistema pode atuar em duas linhas: como removedor do agente, antes que ele cause lesão, ou como reparador da lesão ocorrida, com exceção da vitamina E, que é um antioxidante estrutural da membrana (Ferreira e Matsubara, 1997).

3.2. Antioxidantes sintéticos

Antioxidantes sintéticos têm sido usados para estabilizar óleos e gorduras. Na sua maioria apresentam uma estrutura fenólica que permite a doação de um próton a um radical livre, interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres. Dentre eles

estão BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno), PG (galato de propila) e TBHQ (terc-butil hidroquinona) que são os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos.

O BHA é constituído de dois isómeros: 3-butil hidroxianisol e 2-butil hidroxianisol, apresentando melhor atividade antioxidante em gorduras animais que em óleos vegetais e eficiência limitada em óleos insaturados de vegetais ou sementes. Entretanto, é particularmente efetivo no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta (Ramalho e Jorge, 2006).

O BHT tem propriedades similares ao BHA e ambos são sinergistas entre si. O BHA age como sequestrante de radicais peróxidos, enquanto o BHT age como sinergista, ou regenerador de radicais BHA (Ramalho e Jorge, 2006).

O PG é um éster ligeiramente solúvel em água. Tem ação antioxidante em concentração ótima de atividade como antioxidante e quando usado em níveis elevados pode atuar como pró-oxidante (Ramalho e Jorge, 2006). PG não é adequado para utilização em óleos de fritura porque é volátil às temperaturas elevadas. Tem o poder de quelar íons metálicos de forma eficaz, retardando a oxidação lipídica. No entanto, isto pode afetar negativamente o visual do alimento, pois a formação dos complexos de metal-galato escurece o alimento. Portanto, as formulações com PG são sempre disponíveis com um quelante de metais, tais como o ácido cítrico que evita qualquer descoloração no alimento (Wanasundara e Shahidi, 2005).

O TBHQ é considerado mais eficiente em óleos vegetais que BHA ou BHT, mas em gordura animal, é tão efetivo quanto o BHA e mais efetivo que o BHT ou o PG (Ramalho e Jorge, 2006). Além disso, TBHQ é resistente ao calor, sendo considerado mais indicado para a conservação de alimentos submetidos a processos de fritura. Segundo o Wanasundara & Shahidi (2005), agentes quelantes tais como citratos e monoacilglicerois aumentam a atividade de TBHQ, principalmente em óleos vegetais e gorduras.

Estudos realizados em animais evidenciaram que a exposição prolongada e aguda destes compostos levou ao desenvolvimento de tumores de fígado, pâncreas e glândulas; aumento de H_2O_2 nos microsomas, alterando as funções hepáticas; carcinogênese no estômago de ratos; e adenomas e carcinomas em células hepáticas. Na maioria dos países, o uso de antioxidantes sintéticos em alimentos tem se tornado limitado. No Canadá e na Comunidade Econômica Europeia o uso de TBHQ não é permitido. A Food and Agriculture Organization (FAO) e a World Health Organization

(WHO), constantemente alteram a ingestão diária aceitável (IDA) destas substâncias (Soares, 2002). No Brasil, o uso destes antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde que limita em 200 mg/kg para BHA e TBHQ e 100 mg/g para BHT como concentrações máximas permitidas.

Assim, com o intuito de se evitar esses malefícios e atender às novas exigências do consumidor por alimentos mais saudáveis sem perder a estabilidade dos produtos, cresce o número de propostas para que as indústrias alimentícias utilizem cada vez mais substâncias naturais com atividade antioxidante (Soares, 2002; Kranl *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2009).

3.3. Antioxidantes naturais

O interesse pelos antioxidantes naturais teve início na década de 80 diante da comprovação de efeitos maléficos, citados anteriormente, causados por doses elevadas de antioxidantes sintéticos (Durán e Padilla, 1993). Dessa forma, uma ênfase foi dada à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, que pudessem atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração de alimentos e limitar o uso de antioxidantes sintéticos (Pokorný, 1991).

Várias vantagens são obtidas com a substituição dos antioxidantes sintéticos para os naturais, visto que além de trazer benefícios à saúde e apresentar a funcionalidade de um antioxidante, os naturais apresentam maior solubilidade tanto em água como em óleo, facilitando o seu uso na indústria alimentícia, e utiliza resíduos produzidos pela indústria alimentícia, diminuindo o seu descarte no ambiente.

Os compostos antioxidantes naturais têm sido isolados de diferentes partes de plantas, tais como sementes, frutas, folhas e raízes (Wettasinghe e Shahidi, 1999; Miranda *et al.*, 2001). Nos alimentos, os antioxidantes naturais podem se originar de um ou mais compostos do próprio alimento (via endógena), de substâncias formadas de reações durante o processamento ou como aditivos isolados de fontes naturais (Pratt, 1992). Estudos evidenciam que a propriedade antioxidante das especiarias e de outros vegetais se deve, principalmente, a seus compostos fenólicos.

Os antioxidantes naturais podem funcionar como agentes redutores, como inibidores de radicais livres, como quelantes ou sequestrantes do oxigênio e como desativadores de metais pró-oxidantes (Rice-Evans *et al.*, 1995; Kähkönen *et al.*, 1999).

Entre os antioxidantes naturais mais utilizados podem ser citados tocoferóis, compostos fenólicos e extratos de plantas (Ramalho e Jorge, 2006). Entretanto, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos (Bianchi e Antunes, 1999).

3.4. Compostos fenólicos

O grupo dos compostos fenólicos é constituído por ácidos fenólicos. São definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidrofílicos, incluindo seus grupos funcionais, conferindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos como para o organismo animal (Soares, 2002).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários sintetizados pelos vegetais tanto durante seu desenvolvimento normal, quando em resposta a condições de estresse. Estão associados às estratégias de defesa das plantas (Nass, 2007), tais como infecções, radiações UV e injúrias (Silva *et al.*, 2010). Estes desempenham papel importante no crescimento e reprodução de plantas, síntese de lignina e proteção contra predador e patógenos (Randhir e Shetty, 2004) e contribuem para as qualidades organolépticas e nutricionais das frutas e vegetais. Assim, provavelmente, pelo fato das cascas desempenharem a função de defesa na fruta e as sementes por assegurarem a propagação da espécie, estudos tem comprovado que nas cascas e em sementes de frutas apresentam alta quantidade de compostos fenólicos (Bashir e Abu-Goukh, 2003; Kondo *et al.*, 2002).

Os compostos fenólicos apresentam uma grande diversidade e divide-se em não-flavonóides (fenóis simples ou ácidos) e flavonóides (polifenóis) (Silva *et al.*, 2010).

Os não-flavonóides são derivados dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico. Sua atividade antioxidante está relacionada com a posição dos grupos hidroxilas e também com a proximidade do grupo $-CO_2H$ em relação ao grupo fenil. Quanto mais próximo esse grupo estiver do grupo fenil, maior será a capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição meta. Os principais compostos fenólicos não-flavonóides derivados dos ácidos hidroxicinâmicos são os ésteres dos ácidos caféico, cumárico e felúrico. Quanto aos derivados dos ácidos hidroxibenzóicos, podem-se destacar os ácidos salicílico, gálico, elágico, protocatéico e vanílico (Silva *et al.*, 2010).

Os flavonóides compreendem um grupo de compostos fenólicos amplamente distribuídos nas frutas e nos vegetais, chegando a contabilizar mais da metade dos oito mil encontrados na natureza. São polifenólicos com baixo peso molecular, constituído

de 15 átomos de carbono e são considerados como o mais relevante grupo dos fenóis, pois apresentam a estrutura química que favorece sua ação antioxidante. Apresentam-se sob muitas variações como flavonóis (quercetina, miricetina), flavonas (apegenina, luteolina), flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavonas e chalconas (Silva *et al.*, 2010).

Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Shahidi *et al.*, 1992), agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Segundo Bianchi e Antunes (1999), os flavonóides atuam como antioxidantes na inativação dos radicais livres, em ambos os compartimentos celulares lipofílico e hidrofílico. Esses compostos têm a capacidade de doar átomos de hidrogênio e, portanto, inibir as reações em cadeia provocadas pelos radicais livres (Arora *et al.*, 1998). Porém, a intensidade da ação antioxidante exibida por estes fitoquímicos é diferenciada uma vez que depende, fundamentalmente, do número e posição de hidroxilas presentes na molécula (Melo *et al.*, 2008).

Este mecanismo de ação dos antioxidantes, presentes em extratos de plantas, possui um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal, pois quando incorporado na ração não conserva apenas a qualidade do alimento, mas também reduz o risco de desenvolvimento de doenças (Ângelo e Jorge, 2007).

3.5. Antioxidantes na alimentação de aves

O ovo apresenta um perfil lipídico favorável à oxidação em virtude de altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados. Os processos oxidativo afetam o sabor, a cor, a textura e o valor nutricional, levando a diminuição da vida útil desses alimentos. Dessa forma, a incorporação de antioxidantes na alimentação das aves visa evitar os efeitos indesejáveis da oxidação nesses produtos.

Visto que o ovo é uma excelente fonte de ácidos graxos essenciais que, como em qualquer alimento, este apresenta intensa capacidade à oxidação lipídica, principalmente durante a estocagem (Hayat *et al.*, 2010), muitas pesquisas têm sido realizadas utilizando antioxidantes nas rações com o objetivo de minimizar esse efeito na produção de ovos.

A vitamina E é efetivamente transferida da ração fornecida as poedeiras para a gema do ovo (Surai *et al.*, 1998; Vieira, 2007), indicando que a suplementação nas

rações de aves aumenta a concentração de vitamina E na gema, principalmente dos ovos enriquecidos com PUFA's, podendo reduzir a susceptibilidade a peroxidação lipídica (Surai *et al.*, 1999).

Galobart *et al.* (2001) utilizaram o α -tocoferol na ração de aves com o objetivo de evitar a oxidação em ovos enriquecidos com ω -3 e ω -6 e observaram que houve um aumento na estabilidade oxidativa dos ovos. Hayat *et al.* (2010) avaliaram o efeito do α -tocoferol durante um período de 60 dias de armazenamento dos ovos e observaram que o armazenamento reduz os níveis de ácidos graxos de cadeia longa ω -3 e ω -6 e que o nível de α -tocoferol nos ovos é estável até 40 dias de armazenagem, mas reduz rapidamente depois disso. Resultados semelhantes foram observados por Cherian *et al.* (2007) que perceberam a redução do α -tocoferol após 40 dias de armazenamento e por Franchini *et al.* (2002) que observaram uma diminuição cerca de 40 % na concentração de vitamina E de ovos armazenados após 60 dias a 4 °C.

Pan *et al.* (2010) forneceram níveis crescentes de selênio orgânico às rações de poedeiras semipesadas e observaram que a produção de ovos foi influenciada positivamente pela adição deste mineral nas dietas das poedeiras. Entretanto, Paton *et al.* (2002) não registraram melhora na produção de ovos com a utilização de selênio orgânico. Para Surai (2002), a maior produção de ovos devido à utilização de Se orgânico pode ser explicada por uma melhora na condição sanitária das aves ou pela interação com a vitamina E propiciando maior estabilidade da membrana celular. A interação observada entre vitamina E e selênio evidencia os seus papéis no sistema de proteção antioxidante.

O uso das selenoproteínas como a fonte de suplementação de selênio aumenta a concentração de selênio no ovo e interage com a concentração de vitamina E, que possui alta correlação com a concentração na dieta. A maior biodisponibilidade do selênio orgânico pode aumentar com a concentração de vitamina E no ovo. Para Paton *et al.* (1998), a adição de selênio faz com que a demanda endógena de vitamina E diminua, resultando em uma transferência mais eficiente para o ovo.

Rutz *et al.* (2003) utilizaram uma combinação de minerais orgânicos (zinco, selênio e manganês) e observaram melhora na produção de ovos, conversão alimentar, peso do albúmen e consistência (unidades Haugh) e peso da gema, dos ovos de poedeiras durante um segundo ciclo de postura. A melhora na qualidade do albúmen aparentemente indica uma ação permissiva do selênio orgânico, resultando em uma situação onde o estrogênio e/ou progesterona exercem a sua ação promovendo a

deposição do albúmen com maior consistência no lúmen do magno. Em termos práticos, esta resposta pode contribuir para o aumento do tempo de prateleira e melhor aceitação pelo consumidor (Pan *et al.*, 2010).

Algumas fontes vegetais ricas em compostos com atividade antioxidante têm sido utilizadas na alimentação de poedeiras, na busca pela melhoria do desempenho das aves e da qualidade dos ovos (Botsoglou *et al.*, 2012).

O alecrim é uma especiaria obtida de folhas secas que contém uma grande quantidade de diferentes compostos fenólicos com variadas atividades antioxidantes, sendo o ácido carnósico o maior constituinte fenólico presente nas folhas de alecrim com atividade antioxidante maior que os antioxidantes sintéticos BHA e BHT (Richheimer *et al.*, 1996). Krause e Ternes (2000) obtiveram o ácido carnósico na gema do ovo, quando adicionaram o extrato de alecrim à ração de poedeiras, em níveis de 0,28% e 0,57%. Parpinello *et al.* (2006) adicionaram o extrato de alecrim (500 e 1000 ppm) em rações enriquecidas com ácidos graxos poli-insaturados ω -3 e observaram que a inclusão do antioxidante foi efetiva em manter as características sensoriais dos ovos. Enquanto, Galobart *et al.* (2001a) compararam o efeito da inclusão do extrato de alecrim (500 e 1000 ppm) na estabilidade oxidativa de ovos enriquecidos com ácidos graxos poli-insaturados da ω -3 e os resultados obtidos demonstram que a adição deste extrato nas concentrações utilizadas não foi eficiente em retardar a oxidação lipídica dos ovos.

Botsoglou *et al.* (2005) estudaram o efeito da adição de diferentes antioxidantes de naturais (orégano, alecrim, açafraão e acetato de α -tocoferol) na ração de poedeiras e observaram diferenças na oxidação lipídica entre os tratamentos, tendo o orégano apresentado melhor efeito na estabilidade dos lipídeos que o extrato de alecrim. Entretanto, Handl *et al.* (2008), utilizando o extrato de orégano, na ração para codornas contendo 4% de linhaça, observaram que esse extrato antioxidante não foi efetivo em retardar a oxidação lipídica nos ovos, na concentração utilizada (2%). Porém, Özeku *et al.* (2011) relataram melhoria significativa da altura do albúmen e valores de unidade Haugh, em ovos de poedeiras alimentadas com mistura de óleos essenciais de orégano, louro, sálvia, erva doce e citrus.

Zhao *et al.* (2011), adicionando gengibre em pó à ração de poedeiras, obtiveram aumento na massa de ovos produzidos e na estabilidade lipídica da ração e dos ovos durante o armazenamento. Botsoglou *et al.* (2012), usando folhas de oliveira na ração de poedeiras voltadas à ovos enriquecidos com ácidos graxos ω -3, promoveram maior

estabilidade lipídica das gemas dos ovos. Freitas *et al.* (2013) avaliaram o efeito de extratos etanólicos do caroço e da casca de manga e observaram que esses aditivos não afetaram o desempenho de poedeiras, mas melhoram a qualidade do albúmen e a estabilidade lipídica dos ovos, sendo o extrato etanólico de caroço de manga mais eficiente do que o de casca em retardar a oxidação lipídica de ovos armazenados por até 60 dias.

4. Considerações gerais sobre LCC

O Brasil é conhecido mundialmente por sua biodiversidade e a importância das plantas aqui encontradas para a produção de fármacos com diferentes aplicações.

O cajueiro, da espécie *Anacardium occidentale* Linn., é uma planta originária do nordeste do Brasil, sendo cultivada em outras regiões tropicais brasileiras, na Índia e alguns países africanos. Vários estudos avaliaram os efeitos biológicos e o potencial farmacêutico de extratos do fruto ou partes da planta

O caju é formado por um pedúnculo floral hipertrofiado, sendo geralmente confundido com o fruto. Apresenta grande valor nutricional, com altos teores de vitamina C, niacina e ferro, sendo utilizados para a fabricação de sucos, vinhos, doces e compotas (Rodrigues *et al.*, 2011). No entanto, o fruto propriamente dito é a castanha de caju que é formada por um epicarpo fino que corresponde com a camada externa macia de cor marrom escuro. No interior do epicarpo encontra-se o mesocarpo, uma estrutura esponjosa de forma alveolar, que contém um alto teor de um óleo viscoso, cáustico, de cor marrom escuro, considerado fonte natural de lipídeos fenólicos, conhecido como líquido da casca da castanha de caju (LCC) (Paiva *et al.*, 2000, Mazzetto *et al.*, 2009). No interior da castanha, encontra-se a amêndoa. Tanto a amêndoa como o LCC assume elevada importância econômica para o Brasil.

O LCC é um líquido viscoso escuro e oleoso, que pode ser extraído da castanha de caju. Este corresponde a 25% do peso da castanha e se constitui uma das fontes mais ricas em lipídeos fenólicos iso-propenóides, como o ácido anacárdico (derivado do ácido salicílico), cardóis e metilcardóis (derivados do resorcinol) e cardanóis (um monofenol) (Moreira *et al.*, 1998; Vieira, 2007).

Os ácidos anacárdicos são compostos fenólicos biosintetizados a partir de ácidos graxos. Eles constituem a maior parte do líquido que é extraído da casca da castanha de

caju, mas também podem ser encontrados no pedúnculo e na castanha de caju (Diógenes *et al.*, 1996).

A concentração percentual desses lipídeos fenólicos depende do tipo de processo de extração do LCC, que pode ser a quente ou a frio (Lópes *et al.*, 2011). Se a extração é realizada a temperaturas entre 180-200 °C, como adotada no processo industrial, resulta na descarboxilação do ácido anacárdico conduzindo ao cardanol, componente maioritário neste processo, conhecido como LCC técnico. Na extração a frio, o LCC é obtido através do uso de solventes, sendo chamado de “LCC natural”, em que o ácido anacárdico é o principal constituinte do LCC (Tychopoulos e Tyman, 1990).

Vários autores têm constatado diferenças entre as composições do LCC, de acordo com o processo de extração do óleo. Segundo dados da literatura (Lubic, 2003; Vieira, 2007) o LCC natural contém aproximadamente 65-70% de ácido anacárdico, 11-20% de cardol, 2-3% de 2-metil cardol e traços de cardanol. Para o LCC técnico, são relatadas as seguintes composições aproximadas: 63-65% de cardanol, 11-20% de cardol e 24% de material polimérico.

As principais aplicações do LCC têm sido na fabricação de tintas, inseticidas, fungicidas, antioxidantes, cosméticos e fármacos (Andrade *et al.*, 2011). Porém, atualmente o interesse no uso do LCC está centrado na vasta gama de atividades biológicas do produto devido aos componentes químicos que apresenta (ácido anacárdico, cardol e cardanol), que podem atuar como agente antimicrobiano (Kubo *et al.*, 1993) antioxidante, (Kubo *et al.*, 2006) e antitumoral. Assim, o LCC natural tem despertado grande interesse em pesquisas no campo químico e biológico.

4.1. Ações biológicas do LCC e do ácido anacárdico

As propriedades biológicas do ácido anacárdico fazem do LCC uma fonte promissora de compostos bioativos. Algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas na área de farmacologia para avaliar as ações do ácido anacárdico em animais de laboratório com o objetivo de verificar os efeitos de suas atividades biológicas em benefício da saúde humana.

Uma série de atividades biológicas para os ácidos anacárdicos foi observada como: atividade antitumoral, antiacne, antibacteriana, moluscocida, antifúngica, antioxidante e além da habilidade de inibir as enzimas tirosinase, prostaglandina sintase e lipoxigenase (Toyomizu *et al.*, 2003).

A atividade antibacteriana do LCC contra bactérias Gram-positivas não é devida apenas a um componente, mas sim a ação de vários destes. A adição de uma hidroxila (OH) à molécula do cardanol transforma este componente em cardol, aumentando assim sua atividade antibacteriana. Por outro lado, a adição de um grupo carboxílico (COOH-) ao cardanol produz o ácido anacárdico, representando ainda um aumento mais expressivo da atividade antimicrobiana (Himejia e Kubo, 1991).

Os ácidos anacárdicos apresentam em sua estrutura grupos aromáticos e alifáticos e, portanto, exibem ambos os comportamentos, hidrofílico e lipofílico. Este comportamento anfipático possibilita aos compostos atravessarem as membranas plasmáticas, o que potencializa suas funções biológicas (Correia *et al.*, 2006). Por outro lado, o mecanismo bactericida dos ácidos anacárdicos ainda não foi totalmente esclarecido. No entanto, a ação antibacteriana parece estar relacionada a este caráter anfipático dos lipídios fenólicos. A interação dos grupos hidroxílicos do anel aromático com fosfolipídios por meio de ligações de hidrogênio é o fator responsável da alta afinidade do ácido às bicamadas lipídicas presentes nas membranas bacterianas (Kozubek, 1999). As cadeias alquílicas exercem influência significativa na atividade biológica que pode estar relacionada com o aumento da solubilidade das porções fenólicas nas regiões lipídicas. Uma vez incorporados às membranas celulares, os lipídios fenólicos danificam as proteínas da membrana, provocando aumento da permeabilidade da mesma e, a fuga dos componentes citoplasmáticos, com consequente lise celular (Lima *et al.*, 2000; Burt *et al.*, 2004).

Estudando a ação antimicrobiana do ácido anacárdico, Gellerman *et al.* (1968), Himejima e Kubo (1991) e Parasa *et al.* (2011) relataram que as bactérias Gram-positivas (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Propionibacterium acnes*) são mais sensíveis ao ácido do que as Gram-negativas. Segundo os pesquisadores, esta diferença de ação entre os tipos de microrganismo pode ser devido a uma maior ou menor dificuldade do ácido anacárdico em penetrar na membrana das células dos diferentes microrganismos.

Lima *et al.* (2000) avaliaram a atividade antimicrobiana do ácido anacárdico sobre os microrganismos da cavidade bucal (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Candida utilis*) e verificaram atividade antibacteriana contra os microrganismos citados, porém a maior atividade inibitória ocorreu sobre a bactéria Gram positiva *Streptococcus mutans*, considerada a predominante na cárie dentária. Assim como Melo *et al.* (2006), que confrontaram o extrato da casca do caule de

Anacardium occidentale L. com três espécies de *Streptococcus* isoladas de biofilme dental, concluindo que o extrato pode ser usado terapêuticamente na odontologia como agente antibacteriano.

De acordo com Narasimhan *et al.* (2008), ao investigarem os efeitos antibacterianos do ácido anacárdico em produtos de tomate inoculados com *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ou *Escherichia coli*, armazenados à temperatura ambiente, o mesmo apresentou atividade contra bactérias do tipo gram-positivas e do tipo gram-negativas, agindo como conservantes potenciais de derivados de tomates e podendo ser considerado, inclusive, uma alternativa natural em substituição dos conservantes sintéticos.

Gonçalves *et al.* (2005) que avaliaram a atividade antibacteriana com extrato da castanha do caju, frente a 10 linhagens de bactérias em que 4 (*Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp. Coagulase –) foram sensíveis ao extrato, e as demais (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*) se apresentaram resistentes ao extrato da castanha do caju.

Assim, Achanath *et al.* (2012) patentearam os processos de obtenção de vários derivados do ácido anacárdico que apresentaram ação bacteriostática e bactericida, principalmente contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Enterococcus faecalis*.

Por outro lado, os ácidos anacárdicos que são uma mistura de ácidos 6-álquil-salicílicos, lipossolúveis, apresentam grupos alquílicos que exercem influência significativa na atividade biológica, podendo estar relacionada com o aumento da solubilidade das porções fenólicas nas regiões lipídicas, nas quais é requerida proteção contra degradação biológica ou oxidação química. Dessa forma, a influência da cadeia alquílica no mecanismo de proteção é similar ao efeito que é proposto para a cadeia poliprenílica do tocoferol (Correia *et al.*, 2006).

Para Kubo *et al.* (2006), o ácido anacárdico apresenta atividade antioxidante e seus compostos fenólicos podem atuar de várias formas. Eles podem impedir que os íons de metais de transição iniciem o processo de oxidação, inativar os intermediários da oxidação e inibir várias enzimas pró-oxidantes.

Trevisan *et al.* (2006) destacaram a capacidade antioxidante dos ácidos anacárdicos contido no LCC, bem como quando comparado com outros antioxidantes já conhecidos (hidroxitiroso, ácido salicílico, ácido cafeico, tiroso e trolox) no sistema

hipoxantina/xantina oxidase. Os autores sugeriram que a capacidade antioxidante desse ácido está muito mais relacionada à inibição da produção de superóxido do que à eliminação de radicais hidroxil.

Segundo Andrade *et al.* (2011), o LCC técnico (cardanol – 40,26%; cardol – 29,95%; fitosteróis – 10,68%; triacontanes – 4,66% e ácido anacárdico – 1,79%), na concentração de 100–500 µg/mL, exerce ação protetora contra o estresse oxidativo em levedura quando esta é exposta ao paraquat ou H₂O₂, indicando o seu efeito antioxidante *in vivo*.

Broinizi *et al.* (2008) avaliaram o potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico do bagaço do pedúnculo de caju e verificaram que o mesmo contém antioxidantes naturais efetivos e que podem contribuir na redução da lipoperoxidação e preservação dos ácidos graxos poliinsaturados no tecido cerebral de ratos.

Morais *et al.* (2010) verificaram que o ácido anacárdico exerce efeito gastroprotetor associados aos mecanismos antioxidantes. Enquanto Carvalho *et al.* (2011) verificaram que o ácido anacárdico exerce ação antioxidante e antiinflamatória nos pulmões de ratos submetidos a indução de inflamação pulmonar por exaustão de partícula de diesel.

4.2. LCC na alimentação de aves

Existem poucas informações sobre a inclusão de líquido da castanha de caju (LCC) ou de seus compostos na ração de aves.

López *et al.* (2012) relataram que a adição de LCC em ração na dose de 0,40 mL/kg de ração, proporcionou desempenho semelhante ao obtido com o antibiótico virginiamicina e reduziu a concentração de *Escherichia Coli* no conteúdo intestinal. No entanto, Odunsi e Oyewole (1996) constataram que a adição de LCC na ração dessas aves em níveis acima de 1% prejudicou o desempenho. Por outro lado, em frangos de corte, Toyomizu *et al.* (2003) demonstraram efeito benéfico do ácido anacárdico na prevenção das lesões provocadas pela coccidiose. Entretanto, ainda não se conhece a viabilidade de uso e os efeitos desse ácido orgânico no desempenho zootécnico das poedeiras.

Diante de muitas aplicações biológicas do líquido da castanha de caju (LCC) e de seus constituintes, como o ácido anacárdico, faz-se necessário estudo sobre os efeitos

desse ácido quando aplicado em rações de poedeiras, no que diz respeito à saúde e ao desempenho zootécnico do animal.

5. Referências bibliográficas

ACHANATH, R.; SRINIVAS, M.; RAMADOSS, C. S. Candadal Seshadri. **Antimicrobial derivatives of anacardic acid and process for preparing the same**. U.S. Patent n. 8, v. 338, p. 638, 2012.

ALBUQUERQUE, R.; ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I. Tratamento de rações de aves com ácidos orgânicos: estudo da atividade bactericida e avaliação de técnicas de recuperação de *Salmonella* sp. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 35(6), p. 279-282, 1998.

ANDRADE, T.J.A.; ARAUJO, B. Q.; CITÓ, A.M.G.L.; SILVA, J.; SAFFI, J.; RICHTER, M. F.; FERRAZ, A. D. B. F. Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, v.126, p.1044–1048, 2011.

ÂNGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ARORA, A., MURALEEDHARAN, G.N., STRASBURG, G.M. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.24, n.9, p.1355-1363, 1998.

BAIRD-PARKER, A. C. **Organic acids**. In: SILLIKER, J. H. **Microbiol ecology of foods**. New York, Academic, v. 1, p. 126-135, 1980.

BARBOSA, T. D. S.; MORI, C. K.; POLÔNIO, L. B.; PONSANO, E. H. G.; CIARLINI, P. C. Serum biochemical profile of laying hens in the region of Araçatuba, SP. **Semina: Ciências Agrárias (Londrina)**, v. 32, n. 4, p. 1583-1588, 2011.

BARREIROS, A.L.B.S; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.. Oxidative stress: relations between the formation of reactive species and the organism defense. **Química Nova**, v.29, p.113-123, 2006

BASHIR, H. A.; ABU-GOUKH, A. A. Compositional changes during fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 80, n.4, p. 557-563, 2003

BERGER, M.M. Can oxidative damage be treated nutritionally? **Clinical Nutrition**, v. 24, p. 172-183, 2005.

BIANCHI, M. D. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-30, 1999.

BLACK, A.; BELTRÃO, N.; LEÃO, J. A. Monitoria e controle de Salmonella: aspectos práticos. In: VII SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais...** Chapecó: Embrapa Suínos e Aves, p. 95-103, 2006.

BONATO, M. A.; SAKOMURA, N. K.; SAKOMURA, N.; PIVA, G.; PIVA, G.; BARBOSA, N.; FERNANDES, J. Efeito de acidificantes e extratos vegetais sobre o desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais. **Ars Veterinaria**, v. 24, n. 3, p. 186-192, 2009.

BOTSOGLOU, E.; GOVARIS, A.; FLETOURIS, D.; ILIADIS, S. Olive leaves (*Olea europaea* L.) and α -tocopheryl acetate as feed antioxidants for improving the oxidative stability of α -linolenic acid-enriched eggs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.97, p.740-753, 2012.

BOTSOGLOU, N.; FLOROU-PANERI, P.; BOTSOGLOU, E.; DOTAS, V.; GIANNENAS, I.; KOIDIS, A.; MITRAKOS, P. The effect of feeding rosemary, oregano, saffron and α -tocopheryl acetate on hen performance and oxidative stability of eggs. **South African Journal of Animal Science**, v.35, p.143-151, 2005

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; OLIVEIRA, A. M.; SILVA, R. P. T.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 773 – 781, 2008.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223–253, 2004.

CARVALHO, A. L. N.; ANNONI, R.; SILVA, P. R. P.; BORELLI, P.; FOCK, R. A.; TREVISAN, M. T. S.; MAUAD, T. Acute, subacute toxicity and mutagenic effects of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 3, p. 730-736, 2011.

CHERIAN, G.; TRABER, M. G.; GOEGER, M.P.; LEONARD, S. W. Conjugated Linoleic Acid and Fish Oil in Laying Hen Diets: Effects on Egg Fatty Acids, Thiobarbituric Acid Reactive Substances, and Tocopherols During Storage. **Poultry Science** v. 86, p.953–958, 2007

CHERRINGTON, C.A.; HINTON, M.; CHOPRA, I. Organic Acids: Chemistry, antibacterial activity and practical applications. **Advances Microbiological Physiology**, New York, v.32, p.87-108, 1991.

CORREIA, S.J.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de *anacardiaceae*. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006.

COSTA, L. B. **Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como potenciais promotores de crescimento de leitões recém-desmamados**. 96f. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura" Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

CROMWELL, G. L. Antimicrobial agents. In: MILLER, E. R., ULLREY, D. E., LEWIS, A. J. **Swine nutrition**. Boston Butterworth - Heinemann, p. 297-314, 1991.

DALTON, T. P.; CHEN, Y.; SCHNEIDER, S. N.; NEBERT, D. W.; SHERTZER, H. G. Genetically altered mice to evaluate glutathione homeostasis in health and disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, n. 10, p. 1511-1526, 2004.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry Science**, v. 84, n. 4, p. 634-643, 2005.

DIÓGENES, M. J. N.; MARAIS, S. M.; CARVALHO, F. F. Contact dermatitis among cashew nut workers. **Contact Dermatitis**, v. 35, p. 114-115, 1996.

DURÁN, R. M.; PADILLA, R. B.. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, v. 44, n. 2, p. 101-106, 1993.

FARIA, D. E.; HENRIQUE, A. P. F.; NETO, R. F.. MEDEIROS, A. A.; JUNQUEIRA, O. M.; FARIA FILHO, D. E. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: 2. Ácidos orgânicos e probióticos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 29-39, 2009.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FLORES, F.; LOVATO, M.; WILSMANN, C. G.; GAZONI, F. L.; SILVEIRA, F.; CARON, L. F.; BEIRÃO, B. C. Comportamento de células do sistema imune frente ao desafio com *Salmonella Enteritidis* em aves tratadas e não tratadas com ácidos orgânicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 495-502, 2012.

FRANCHINI, A.; SIRRI, F.; TALLARICO, N.; MINELLI, G.; IAFFALDANO, N.; MELUZZI, A. Oxidative stability and sensory and functional properties of eggs from laying hens fed supranutritional doses of vitamins E and C. **Poultry Science Poultry Science**, v.81, p.1744-1750, 2002.

FREITAS, E. R.; BORGES, Â.S.; TREVISAN, M. T. S.; CUNHA, A. L.; BRAZ, N.M., WATANABE, P. H.; NASCIMENTO, G. A. J. Extratos etanólicos de manga como antioxidantes na alimentação de poedeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48(7), p. 714-721, 2013.

GALOBART, J.; BARROETA, A. C.; BAUCCELLS, M. D.; GUARDIOLA, F. GALOBART, J. Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. **Poultry Science**, v. 80, n. 3, p. 327-337, 2001.

GALOBART, J.; BARROETA, A.C.; BAUCCELLS, M. D.; CODONY, R.; TERNES, W. Effect of dietary supplementation with rosemary extract and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in eggs enriched with ω 3-fatty acids. **Poultry science**, v.80, p.460-467, 2001a.

GAMA, N. M. S. Q.; OLIVEIRA, M. D.; SANTIN, E.; BERCHIERI JR, A. Ácidos orgânicos em rações de poedeiras comerciais. **Ciência Rural**, v. 30, n. 3, p. 499-502, 2000.

GARCIA, R. G.; ARIKI, J.; MORAES, V. M. B.; KRONKA, S. N.; BORGES, S. A. Promotor de crescimento em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, 2000.

GAUTHIER, R. Intestinal Health, the key to productivity (The case of organic acids). In: PRECONGRESSO CIENTIFICO AVICOLA IASA; CONVENCION ANECA WPDC, 27, México, p.424, 2002.

GELLERMAN, J. L; SCHLENK, H. Methods for isolation and determination of anacardic acids. **Analytical Chemistry**, v.40, n.4, p.739-743, 1968.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72(3), p. 353-358, 2005.

GONZALES, E. Ação pró-nutritiva dos aditivos alimentares. **Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2004.

GRAF, E.; EATON, J. W. Antioxidant functions of phytic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 8, n. 1, p. 61-69, 1990.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3.ed. Oxford, New York, 2000.

HANDL, S.; HELLWEG, P.; KHOL-PARISINI, A.; ROSSMANN, B.; THURNER, K.; LUF, W.; NIVAK, J.; ZENTEK, J. Effect of oregano (*Majorana x Vulgare*) on performance and antioxidant capacity of quails fed a diet rich ω 3 fatty acids. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.92, p.242-245, 2008.

HART H., SCHUETZ, R.D. **Organic chemistry: a short course**. 4ed. Michigan: Michigan State University, p. 500, 1972.

HAYAT, Z.; CHERIAN, G.; PASHA, T.N.; KHATTAK, F.M.; JABBAR, M.A. Oxidative stability and lipid components of eggs from flax-fed hens: effect of dietary antioxidants and storage. **Poultry Science**, v.89, p.1285-1292, 2010.

HIMEJIMA, M.; KUBO I. Antibacterial Agents from the Cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) Nut Shell Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, p.418-421, 1991.

HUBER, P.C.; ALMEIDA, W.P.; FATIMA, A. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.

IQBAL, M.; CAWTHON, D.; BEERS, K.; WIDEMAN, R. F.; BOTTJE, W. G. Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome (PHS) in broilers. **Poultry Science**, v. 81, n. 2, p. 252-260, 2002.

KÄHKÖNEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VUORELA, H.J.; RAUHA, J. P.; PIHLAJA, K., KUJALA, T.S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** Columbus, v.47, p.3954-3962, 1999.

KOJO, S. Vitamin C: basis metabolism and its function as an index of oxidative stress. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 8, p. 1041-1064, 2004.

KONDO, S.; TSUDA, K.; MUTO, N.; UEDA, J. Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. **Scientia Horticulturae**, v.96, p.177-185, 2002.

KOURY, J.C.; DONANGELO, C.M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição** v. 16(4), p. 433-441, 2003.

KOZUBEK, A. Resorcinolic lipids, the natural non-isoprenoid phenolic amphiphiles and their biological activity. **Chemical Reviews**, v.99, p.1-25, 1999.

KRANL, K.; SCHLESIER, K.; BITSCH, R.; HERMANN, H.; ROHE, M.; BOHM, V. Comparing antioxidative food additives and secondary plant products – use of different assays. **Food Chemistry**, v. 93, p. 171-175, 2005.

KRAUSE, E.; TERNES, W. Bioavailability of the antioxidative *rosmarinus officinalis* compound carnosic acid in eggs. **European Food Research Technology**, v.210, p.161-164, 2000.

KUBO, I.; OCHI, M.; VIEIRA, P. C.; KOMATSU, S. Antitumor agents from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v. 41, p. 1012–1015. 1993a.

KUBO, I., MUROI, H.; HIMEJIMA, M.; YAMAGIWA, Y.; MERA, H.; TOKUSHIMA, K.;OHTA, S.; KAMIKAWA, T. Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 41, p. 1016-1019, 1993b.

KUBO, I.; MASUOKA, N.; HA, T. J.; TSUJIMOTO, K. Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chemistry**, v. 99, n. 3, p. 555-562, 2006.

KUBO, I.; NIHEI, K. I.; TSUJIMOTO, K. Antibacterial action of anacardic acids against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of agricultural and food chemistry**, v.17; 51 (26), p 7624-7628, 2003.

LE NY, P. Use of organic acids in poultry production. Mode of action and applications. In: I FÓRUM INTERNACIONAL DE AVICULTURA. Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Editora Animal World, p.158-165, 2005.

LEESON, S.; NAMKUNG, H.; ANTONGIOVANNI, M.; LEE, E. H. Effect of butiric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. **Poultry Science**, v.84, p.1418-1422, 2005.

LIMA, C. A. D. A.; PASTORE, G. M.; LIMA, E. D. P. D. A. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos clones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.3, p. 2000.

LOPES, M. S.S.; OLIVEIRA, P. C. C.; ANDRADE, M. V. F.; SANTOS ARAÚJO, R.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. Remoção de macronutrientes de efluente da indústria de castanha de caju por uso de reator aeróbio em batelada com inóculo fúngico. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 16(1), p. 17-26, 2011.

LÓPEZ, C.A.A.; LIMA, K.R.S.; MANNO, M.C.; TAVARES, F.B.; FERNANDES NETO, D.L.; JESUS, M.L.C.; VIANA, M.A.O. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 64(4), 1027-1035, 2012.

LUBIC, M.; THACHIL, E.T. Copolymerization of cashew nut shell liquid (CNSL) and phenol by condensation with hexamine. **International Journal of Polymeric Materials**, v. 52, p. 793 - 807, 2003.

LÜCKSTÄDT, C ed. **Acidifiers in animal nutrition: a guide for feed preservation and acidification to promote animal performance**. Nottingham University Press, 2007.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; BORGES, S. A.; OPALINSKI, M.; SILVA, A. V. F. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico em dietas iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 31-37, 2004.

MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, p. 732-741, 2009.

MELLOR, S. Alternatives to antibiotic. **Pig Progress**, Doetinchen, v. 16, p. 18-21, 2000.

MELO, A. F. M.; SANTOS, E. J. V.; SOUZA, L. F. C.; CARVALHO, A. A. T.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16(2), p. 202-205, 2006.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, 2008.

MIRANDA, E. M. C.; LANTIGUA, I. H.; JANER, N. L. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Catalasa. **Rev Cubana InvestBioméd**, v. 15(2), 1996.

MIRANDA, M.S.; SATO, S.; MANCINI-FILHO, J. Antioxidant activity of the Microalga *chlorella vulgaris* cultered on special conditions. **Bolletino Chimico Farmaceutico**, v.140, n.3, p.165-168, 2001.

MIYAMOTO, Y.; KOH, Y. H.; PARK, Y. S.; FUJIWARA, N.; SAKIYAMA, H.; MISONOU, Y.; OOKAWARA, T.; TANIGUCHI, N. Oxidative stress caused by inactivation of glutathione peroxidase and adaptive responses. **Biological Chemistry**, v.384, n.4, p.567-574, 2003.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J. A review of interations between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, p.95-117, 2003.

MORAIS, T.C.; PINTO, N.B.; CARVALHO, K.M.M.B; RIOS, J. B.; RICARDO, N. M. P.; TREVISAN, M. T. S.; RAO, V.S.; SANTOS, F. A. Protective effect of anacardic acids from cashew (*anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. **Chemico-biological interactions**, n.183, p.264–269, 2010.

MOREIRA, L.F.B.; GONZÁLEZ, G.; LUCAS, E.F. Estudo da interatividade entre moléculas asfáltêmicas e compostos estabilizantes: LCC e Cardanol. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 8, n. 3, p. 46 - 54, 1998.

MURPHY, R.Y.; HANSON, R.E.; JOHNSON, N.R.; CHAPPA, K.; BERRANG, M.E. Combining organic acid treatment with steam pasteurization to eliminate *Listeria monocytogenes* on fully cooked frankfurters. **Journal of Food Protection**, v. 69, p.47–52, 2006.

NARASIMHAN, B.; PANGHAL, A.; SINGH, N.; DAKHE, S. Eficiency of anacardic acid as preservative in tomato products. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 32, n.4, p.600-609, 2008.

NASS, L. L. *Recursos genéticos vegetais*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos Vegetais e Biotecnologia, 2007.

NOGUCHI, N.; NIKI, E. Phenolic antioxidants: a rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. **Free Radical Biology & Medicine**.v.28, n.10, p.1538-1546, 2000.

NOGUEIRA, C.; BORGES, F.; RAMALHO, A. Micronutrientes com ação antioxidante em neonatos. **Revista Paulista de Pediatria** v. 28, n. 4, p. 381-6, 2010.

NORDBERG, J.; ARNÉR, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 31, n.11, p. 1287-1312, 2001

ODUNSI, A.A.; OYEWOLE, S.O. Response of broiler chicks to diets containing varying levels of cashew nut oil and palm oil. **Ghana Journal of Agricultural Science** 29, p. 59-63, 1996.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIN, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, E. **O uso de ácidos graxos de cadeia curta no controle de *Salmonella* em rações de aves**. 76 f. Dissertação (Mestrado) – USP/ESALQ, Piracicaba, 1996.

ÖZEKU, K.; WELLMANN, K.T.; ERTEKIN, B.; TARIM, B. Effects of dietary herbal essential oil mixture and organic acid preparation on laying traits, gastrointestinal tract characteristics, blood parameters and immune response of laying in a hot summer season. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.20, p.575-586, 2011

PAIVA, F.F.A.; GARRUTTI, D.S.; SILVA NETO, R.M. **Aproveitamento Industrial do Caju**. EMBRAPA/SEBRAE-CE, p.83, 2000.

PAN, E.A.; RUTZ, F.; DIONELLO, N. J.; ANCIUTI, M.; KRABBE, E. L. Desempenho de poedeiras semipesadas arraçoadas com a suplementação de selênio orgânico. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.16, n.1-4, p.83-89, jan-dez, 2010.

PARAMASHIVAPPA, R.; KUMAR, P.P.; VITHAYATHIL, P. J.; RAO, A. S. Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2548-2551, 2001.

PARASA, L.S.; SUNITA T.; RAO K B.; Rao, A. H.; Rao, J. S.; Kumar, L. C. A. Acetone extract of Cashew (*Anacardium occidentale*, L.) nuts shelliquid against Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) by minimum inhibitory concentration (MIC). **Journal of Chemical and Pharmaceutical**, v. 3, p. 736-742, 2011.

PARPINELLO, G.P.; MELUZZI, A.; SIRRI, F.; TALLARICO, N.; VERSARI, A. Sensory evaluation of egg products and eggs laid from hens fed diets with different fatty acid composition and supplemented with antioxidants. **Food Research International**, v.39, p.47-52, 2006.

PARTANEN, K.H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition research review**, v. 12, p. 117-145, 1999.

PATON, N.D.; CANTOR, A.H; FORD, M.J.; SLAUGH, B.T.; RIZVI, A.F.; KARNEZOS, T.P. Effect of providing organic selenium and chromium as yeast in

laying hen diets on nutrient composition of eggs. **Poultry Science**. v.77, n.1, p.11, 1998.

PATON, N.D.; CANTOR, A.H; PESCATORE, A.J.; FORD, M.J.; SMITH, C.A. Absorption of selenium by developing chick embryos during incubation. In: LYONS, T.P.; JACQUES, K.A. Biotechnology in the Feed Industry. 18th Alltech's Annual symposium. **Proceedings...** Nottingham, UK: Nottingham University Press, p.107-121, 2002.

PENZ, A. M.; SILVA, A.; RODRIGUES, O. Ácidos orgânicos na alimentação de aves. In: Conferência APINCO de ciência e tecnologia avícolas, 1993, Santos. **Anais:** Campinas: FACTA, p. 111-119. 1993.

PICKLER, L.; HAYASHI, R. M.; LOURENÇO, M. C.; MIGLINO, L. B.; CARON, L. F.; BEIRÃO, B. C.; SANTIN, E. Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de corte desafiados com *Salmonella Enteritidis* e *Minnesota* e tratados com ácidos orgânicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 27-36, 2012.

POKORNÝ, J. Natural antioxidants for food use. **Trends in Food Science & Technology**, v. 2, p. 223-227, 1991.

PRATT, D.E. Natural antioxidants from plant material. In: HUANG, M.T., HO, C.T., LEE, C.Y. **Phenolic compounds in food and their effects on health**. Washington: American Chemical Society, p.54-71, 1992.

PRITHIVIRAJ, B.; SINGH, U. P.; MANICKAM, M.; RAY, A. B. Antifungal activity of anacardic acid, a naturally occurring derivative of salicylic acid. **Canadian journal of botany**, v. 75, n. 1, p. 207-211, 1997.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RANDHIR, R.; SHETTY, K. Microwave-induced stimulation of l-DOPA, phenolics and antioxidant activity in fava bean for Parkinson's diet. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 11, p. 1775-1784, 2004.

REZENDE, C. S. M.; MESQUITA, A. J. D.; ANDRADE, M. A.; STRINGHINI, J. H.; CHAVES, L. S.; MINAFRA, C. S.; LAGE, M. E. Ácido acético em rações de frangos de corte experimentalmente contaminadas com "*Salmonella Enteritidis*" e "*Salmonella Typhimurium*". **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 3, 2008.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; BOLWELL, P.G.; BRAMLEY, P.M.; PRIDHAM, J.B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research**, Amsterdam, v.22, n.4, p.375- 383, 1995.

RICHEIMER, S.; BERNART, M.; KING, G.; KENT, C.; BAILEY, D. Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary. **Journal of the American Chemical Society**, v.73, p.507-514, 1996

RICKE, S.C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobial. **Poultry Science**, Champaign, v.82, p.632-639, 2003.

RODRIGUES, M.R.C.; RONDINA, D.; ARAÚJO, A.A. Respostas reprodutivas e metabólicas de ovelhas alimentadas com bagaço de caju desidratado, durante o pós-parto. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.171-179, 2011.

ROTH, F.X. Ácidos orgánicos en nutrición porcina: eficacia y modo de acción. In: **XVI Curso de Especialización FEDNA: Avances in Nutrición y Alimentación Animal**, p. 169-181, 2000.

RUNHO, R.C., SAKOMURA, N.K., KUANA, S., BANZATTO, D., JUNQUEIRA, O.M., STRINGHINI, J.H. Uso do ácido orgânico (ácido fumárico) nas rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.6, n.6, p.1183-1191, 1997.

RUTZ, F.; PAN, E.A.; XAVIER, G.B.; ANCIUTI, M.A. Meeting selenium demands of moderns poultry: responses to Sel-Plex™ organic selenium in broiler and breeder diets. In: LYONS, T.P.; JACQUES, K.A. Nutritional biotechnology in the feed and food industries. 19th Alltech's Annual symposium. **Proceedings...** Nottingham, UK: Nottingham University Press, p.147-161, 2003.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D.; **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.32, p. 67, 1992.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid Oxidation: Measurement Methods. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Shahidi, F. Sixth Edition, Six Volume Set. Canadá: John Wiley & Sons, Inc., pp. 357-358, 2005.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, M.C. **Ácidos orgânicos e suas combinações em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade**. 64 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidants. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p.71-81, jan/abr. 2002.

SOUZA, P. A. D.; SOUZA, H. B. A. D.; OBA, A.; GARDINI, C. H. C. Influence of ascorbic acid on egg quality. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 273 - 275, 2001.

SURAI, P.F. **Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction**. 1.ed., Nottingham, UK: Nottingham University Press., 2002.

SURAI, P.F.; BLESBOIS, E.; GRASSEAU, I.; CHALAH, T.; BRILLARD, J.P.; WISHART, G.J.; CEROLINI, S.; SPARKS, N.H.C.; Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity

of avian semen **Comparative Biochemistry and Physiology Part B** v.120, p. 527–533, 1998.

SURAI, P.F.; NOBLE, R.C.; SPEAKE, B.K. Relationship between vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation in tissues of the newly hatched chick. **British Poultry Science**, v. 40, p.406- 410, 1999.

TOYOMIZU, M.; OKAMOTO, K.; ISHIBASHI, T.; CHEN, Z.; NAKATSU, T. Uncoupling effect of anacardic acids from cashew nut shell oil on oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria. **Life science**, v.66, n.3, p. 229-234, 2000.

TOYOMIZU, M.; OKAMOTO, K.; ISHIBASHI, T.; NAKATSU, T.; AKIBA, Y. Reducing effect of dietary anacardic acid on body fat pads in rats. **Animal Science Journal**, v. 74, n. 6, p. 499-504, 2003.

TREVISAN, M.T.S. B.; PFUNDSTEIN, B.; HAUBNER, R.; WÜRTELE, G.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H.; OWEN, R. W. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology** , v. 44, p. 188–197. 2006.

TYCHOPOULOS, V.; TYMAN, J. H. P. Long chain phenols-the thermal and oxidative deterioration of phenolic lipids from the cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell. **Journal Science and Food Agricultural**, v. 52, p. 71-83. 1990.

VALE, M.V.; MENTEN, J.F.M.; MORAIS, S.C.D.; BRAINER, M.M.A. Mixture of formic and propionic acid as additives in broiler feeds. **Scientia Agricola**, v.61, p.371-375, 2004.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MANZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, n. 1, p. 1-40, 2006.

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F.; JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M.; BERNARDES, M. M.; JORDÃO, A. J. Papel dos nutrientes na peroxidação lípídica e no sistema de defesa antioxidante. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 31, n. 1, p. 31-44, 1998.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. D. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. D. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-38, 2007.

VATTAY, P.; FEIL, W.; KLIMESCH, S.; WENZI, E.; STARLINGER, M.; SCHIESSLER, R. Acid stimulated alkaline secretion in the rabbit duodenum is passive and correlates with mucosal damage. **Gut**, v. 29, p. 284-290, 1988

VIEIRA, S.L. Chicken embryo utilization of egg micronutrients. **Revista Brasileira Ciência Avícola** v.19, p.1-8, 2007.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 1097-1104, 2007.

VIOLA, E.S.; VIEIRA, S.L. Ácidos orgânicos e suas misturas em dietas de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2, Cascavel. **Anais ...** Cascavel: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.153-182, 2003.

WANASUNDARA, P.K.J.P.D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, technology, and applications. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, 2005.

WETTASINGHE M.; SHAHIDI F. Antioxidant and free radical-scavenging Properties of ethanolic extracts of defatted borage (*borago officinalis* L.) seeds. **Food Chemistry**, v.67, p.399-414, 1999.

YEGANI, M.; KORVER, D. R. Factors affecting intestinal health in poultry. **Poultry Science**, v. 87, n. 10, p. 2052-2063, 2008.

ZHAO, X.; YANG, Z.B.; YANG, W.R.; WANG, Y.; JIANG, S.Z.; ZHANG, G.G. Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) on laying performance and antioxidant status of laying hens and on dietary oxidation stability. **Poultry Science**, v.90, p.1720-1727, 2011.

CAPÍTULO II

Perfil bioquímico sérico, atividade enzimática e peroxidação lipídica em órgãos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo líquido da castanha de caju

Perfil bioquímico sérico, atividade enzimática e peroxidação lipídica em órgãos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo líquido da castanha de caju

RESUMO - A pesquisa teve como objetivo avaliar os parâmetros bioquímicos do sangue, assim como, a atividade enzimática e a peroxidação lipídica do fígado e tecidos do sistema reprodutor (ovário, magno e útero) de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo o líquido da castanha de caju (LCC). Um total de 216 poedeiras comerciais Hisex White foi distribuído ao acaso em seis tratamentos, com seis repetições de seis aves. Os tratamentos consistiram em: ração sem promotor de desempenho (PD); ração com PD e rações sem PD e adição de níveis crescente de LCC (0,25; 0,50; 0,75 e 1,00%). A adição de LCC na ração não influenciou nos parâmetros bioquímicos do sangue (ácido úrico, creatinina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos), na atividade enzimática (superóxido dismutase e grupos sulfidrílicos não-protéicos) nos órgãos (fígado, ovário, magno e útero) e na peroxidação dos lipídeos do soro sanguíneo, fígado, magno e útero. No entanto, os níveis de 0,75% e 1,00% de LCC proporcionaram menor valor de TBAR'S no ovário das aves, enquanto, o tratamento sem promotor de desempenho proporcionou maior valor. A adição de até 1,00% do LCC, como fonte de ácido anacárdico na ração das poedeiras, não influencia os parâmetros bioquímicos do sangue e a atividade das enzimas no fígado, ovário magno e útero, mas reduz a peroxidação lipídica no ovário a partir da inclusão de 0,75% de LCC.

Palavras-chaves: ácido anacárdico, ácido orgânico, antioxidante

Serum biochemical profile, enzymatic activity, and lipid peroxidation in organs of commercial layers hen fed diets containing cashew nut shell liquid

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the blood biochemical parameters as well as the enzymatic activity and lipid peroxidation of liver and tissues of the reproductive system (ovary, magnum, and uterus) of commercial layers fed diets containing cashew nut shell liquid (CNSL). A total of 216 Hisex White commercial layer hens were distributed randomly into six treatments, with six replicates of six birds. Treatments consisted of a diet without performance promoter (PP); a diet with PP; and diets without PP, with addition of increasing levels of CNSL (0.25, 0.50, 0.75, and 1.00%). Addition of CNSL to the diet did not affect the blood biochemical parameters (uric acid, creatinine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, total cholesterol, HDL, LDL, and triglycerides), the enzymatic activity (superoxide dismutase and non-protein sulfhydryl groups) in the organs (liver, ovary, magnum and uterus) or the peroxidation of lipids from the blood serum, liver, magnum and uterus. However, the levels of 0.75% and 1.00% CNSL provided a lower TBARS content in the birds' ovary, whereas the treatment without the growth promoter provided a higher value. Addition of up to 1.00% of the CNSL as a source of anacardic acid in the laying hens diets does not influence their blood biochemical parameters or the activity of the enzyme in the liver, ovary, magnum, and uterus, but affects the lipid peroxidation in the ovary, though the problem is reduced from inclusion of 0.75% CNSL.

Keywords: anacardic acid, organic acid, antioxidant

Introdução

Os antibióticos e quimioterápicos, por muito tempo, vêm sendo utilizados com finalidades profiláticas na produção animal. Entretanto, os programas de alimentação passaram a incluir antibióticos em doses subterapêuticas e constantes como promotores de desempenho. Atualmente, o uso constante dos aditivos antibióticos na alimentação dos animais de produção passou a ser visto como fator de risco para a saúde humana devido a uma possível contribuição dessa prática na ocorrência de resistência microbiana.

Diante da perspectiva do completo banimento dos aditivos antibióticos em rações para animais destinados ao consumo humano, pesquisas têm sido desenvolvidas em busca de alternativas a esses aditivos e, assim, minimizar as perdas econômicas advindas de uma redução no desempenho animal. Nesse sentido, entre outros aditivos alternativos, os ácidos orgânicos e extratos vegetais com ação antimicrobiana e atividade antioxidante *in vitro*, vêm sendo avaliados na alimentação de poedeiras (Freitas *et al.*, 2013).

O líquido da castanha de caju (LCC) é viscoso, castanho escuro, oleoso e caústico, que pode ser extraído da castanha de caju (Chaves *et al.*, 2010), onde corresponde a 25% do peso. Segundo Trevisan *et al.* (2006), o LCC se constitui uma das fontes mais ricas em lipídeos fenólicos iso-propenóides, como o ácido anacárdico (derivado do ácido salicílico), cardóis e metilcardóis (derivados do resorcinol) e cardanóis (um monofenol), tendo sido relatado uma variedade de propriedades biológicas para o seu uso.

A concentração percentual dos compostos presente no LCC depende do processo de extração. O LCC natural contém ácido anacárdico (60-65%), cardol (15-20%), cardanol (10%) e vestígios de 2-metil cardol. Na extração em temperaturas elevadas (180 e 200°C) ocorre descarboxilação e a composição do LCC muda, apresentando maior teor cardanol (83-84%), menos cardol (8-11%), mantem o material polimérico em 10% e 2% de 2-metil cardol (Kumar *et al.*, 2002). A baixa concentração de ácido anacárdico é uma característica do LCC técnico, obtido na indústria de beneficiamento da castanha de caju para o consumo humano, onde as castanhas são aquecidas à temperatura entre 180 e 200°C para extração do LCC.

O LCC natural tem despertado grande interesse em pesquisas no campo químico e biológico devido apresentar uma maior concentração de ácido anacárdico. A este

composto é atribuída uma variedade de atividades biológicas, tais como atividade antibacteriana, antimicrobiana, e antioxidante (Trevisan *et al.*, 2006). Os outros constituintes do LCC também ganharam interesse em muitas aplicações industriais, mas a presença de cardols e cardanols pode ser um problema para o uso de LCC como fonte de ácido anacárdico, uma vez que não se conhece os seus efeitos sobre os animais.

O ácido anacárdico exerce atividade inibidora da xantina oxidase, enzima responsável pela conversão da xantina e hipoxantina em ácido úrico. Dessa forma, o ácido anacárdico deve ser investigado como um agente terapêutico na prevenção de disfunções fisiológicas relacionadas ao excesso de ácido úrico no organismo (Masuoka e Kubo, 2004). Trevisan *et al.* (2006) observaram que o ácido anacárdico apresenta grande capacidade antioxidante, que foi relacionada à inibição da formação de superóxidos e ação inibidora da xantina oxidase. Moraes *et al.* (2010) verificaram que o ácido anacárdico exerce efeito gastroprotetor associado aos mecanismos antioxidantes. Toyomizu *et al.* (2000) verificaram que o ácido anacárdico apresenta atividade antioxidante na prevenção dos danos oxidativos na mitocôndria do fígado de ratos. Soiefer e Rauckman (2001) mostraram que o extrato bruto de *Anacardium occidentale* promoveu uma toxicidade aguda moderada em ratos.

No entanto, existem poucas informações sobre a inclusão de líquido da castanha de caju (LCC) ou de seus compostos na ração de poedeiras comerciais. Odunsi e Oyewole (1996) constataram que a adição de LCC na ração de frangos de corte em níveis acima de 1,00% prejudicou o desempenho. Lopes *et al.* (2012) relataram que a adição de LCC na ração de frangos de corte na dose de 0,40 mL/kg de ração, proporcionou desempenho semelhante ao obtido com o antibiótico virginiamicina e reduziu a concentração de *Escherichia Coli* no conteúdo intestinal.

Assim, esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de avaliar os parâmetros bioquímicos do sangue, assim como a atividade enzimática e peroxidação lipídica do fígado e tecidos do órgão reprodutor (ovário, magno e útero) de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo o líquido da castanha de caju (LCC) como fonte de ácido anacárdico.

Material e Métodos

Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo no

23/2013 de 24 de julho de 2013, e está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus do Pici, Fortaleza - Ceará, no Setor de Avicultura.

Para condução do experimento foram adquiridas foram utilizadas 216 poedeiras comerciais Hisex White, com 40 semanas de idade, alojadas em gaiolas de arame galvanizado (25x40x30 cm), à densidade de duas aves por gaiola. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições de seis aves por tratamento. Os tratamentos aplicados foram: T1 - controle negativo - ração sem promotor de desempenho (PD); T2 - controle positivo - ração com promotor de desempenho; T3 - ração com adição de 0,25% de líquido da casca da castanha de caju (LCC) e sem promotor de desempenho; T4 - ração com adição de 0,50% de LCC e sem promotor de desempenho; T5 - ração com adição de 0,75% de LCC e sem promotor de desempenho; T6 - ração com adição de 1,00% de LCC e sem promotor de desempenho.

As rações experimentais (Tabela 1) utilizadas eram isonutrientes e isoenergéticas, de acordo com as exigências nutricionais das aves, pelas recomendações do manual de manejo da linhagem (Manual de manejo Hisex White, 2008) e conforme os valores de composição dos alimentos propostos por Rostagno *et al.* (2011).

Para obtenção do LCC (líquido da casca da castanha de caju) foram adquiridas castanhas de caju no mercado local e levadas ao Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica do Centro de Ciência da Universidade Federal do Ceará, onde foram submetidas ao aquecimento em estufa a 175 °C por 45 minutos para a liberação do LCC e coleta, conforme Trevisan *et al.* (2006). Em 100 g de castanha foi obtido 30 g de LCC, em que 50% deste LCC continha uma mistura de ácidos anacárdicos, 30% de cardanol e 20% de cardol.

O período experimental foi de 105 dias divididos em cinco períodos de 21 dias cada. As aves receberam ração e água à vontade durante todo período experimental, com iluminação de 16 horas diárias de luz. Os comedouros foram abastecidos duas vezes ao dia, no início da manhã e ao final da tarde.

Tabela 1. Composição das rações experimentais.

Ingredientes (%)	Controle sem PD	Controle com PD	Níveis de líquido da castanha de caju (%)			
			0,25	0,50	0,75	1,00
Milho	61,40	61,40	61,40	61,40	61,40	61,40
Farelo de soja	26,15	26,15	26,15	26,15	26,15	26,15
Óleo de soja	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
Calcário calcítico	8,79	8,79	8,79	8,79	8,79	8,79
Fosfato bicálcico	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
DL-metionina	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
Vitamina para postura ¹	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Mineral para postura ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal comum	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Inerte (areia lavada)	1,00	0,97	0,75	0,50	0,25	0,00
Halquinol 60%	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Enramicina - 8%	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Antioxidante ³	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
LCC	0,00	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Composição nutricional e energética

Energia metabolizável (kcal/kg)	2.700	2.700	2.700	2.700	2.700	2.700
Proteína bruta (%)	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00
FDN (%)	10,84	10,84	10,84	10,84	10,84	10,84
FDA (%)	4,31	4,31	4,31	4,31	4,31	4,31
Ácido linoleico (%)	1,53	1,53	1,53	1,53	1,53	1,53
Cálcio (%)	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90
Fósforo disponível (%)	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Fósforo total (%)	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62
Sódio (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Lisina digestível (%)	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Metionina digestível (%)	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Met + cistina digestível (%)	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Treonina digestível (%)	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57
Triptofano digestível (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18

¹Vitamina (quantidade fornecida por quilograma do produto): vitamina A - 20.000.000 UI/kg; vitamina D3 - 7.000.000 UI/kg; vitamina E - 80.000 mg/kg; vitamina K3 (Menadiona) - 4.000 mg/kg; vitamina B1 - 3.000 mg/kg; vitamina B2 - 10.000 mg/kg; vitamina B6 - 6.000 mg/kg; vitamina B12 - 20.000 mcg/kg; vitamina C - 300 mg/kg; niacina - 60.000 mg/kg; ac. pantotênico - 20.000 mg/kg; biotina - 50 mg/kg; ac. fólico - 1.000 mg/kg; selênio - 600 mg/kg. ²Minerais (quantidade fornecida por quilograma do produto): ferro - 50.000 mg/kg; cobalto - 200 mg/kg; cobre - 10.000 mg/kg; zinco - 60.000 mg/kg; manganês inorgânico - 80.000 mg/kg; iodo - 1.000 mg/kg. ³Banox: BHA, BHT, Propilgalato - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.

Diariamente, durante todo o período experimental, a temperatura e umidade relativa do ar dentro do galpão foram medidas com termômetro de máxima e mínima e psicrômetro, respectivamente. Os dados foram registrados diariamente e as leituras

realizadas às 8:00 e 16:00 horas. No final do experimento os valores médios obtidos da temperatura mínima e máxima e umidade relativa do ar no galpão foram $26,82 \pm 1,56$ °C, $30,33 \pm 1,40$ °C e 70%, respectivamente.

No final do período experimental foram selecionadas duas aves de cada repetição com base no peso corporal médio da parcela para a coleta de sangue e órgãos (fígado, ovário, magno e útero) para análise das atividades enzimáticas e peroxidação lipídica.

As amostras de sangue foram retiradas puncionando a veia braquial usando agulhas esterilizadas e tubos não heparinizados. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm durante 15 min em temperatura ambiente. O soro resultante (sobrenadante) foi armazenado em tubos de eppendorf de 1,5 mL para posterior análise dos parâmetros bioquímicos, atividade enzimática e peroxidação lipídica. Após a coleta de sangue, as aves foram sacrificadas por deslocamento cervical para coleta de amostras do fígado, do ovário, do magno e do útero, que foram identificados e acondicionados em sacos plásticos resistentes. As amostras dos órgãos e parte das amostras do soro foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenadas a -80°C até o momento das análises de atividade enzimática. O restante do soro sanguíneo foi utilizado para a análise bioquímica.

As análises bioquímicas do sangue foram realizadas pelo método de automação (Metrolab 2300 plus) com kits cinéticos da Wiener, conforme instrução do fabricante e usando as soluções padrões em branco. Cada analito testado foi processado individualmente por espectrofotometria com regulação de temperatura das cubetas de incubação. Os resultados foram impressos pelo próprio aparelho logo após a conclusão das determinações. Foram dosados os seguintes analitos: ácido úrico (mg/dl), creatinina (mg/dl), alanina aminotransferase (U/L), aspartato aminotransferase (U/L), colesterol total (mg/dl), HDL (mg/dl), LDL (mg/dl) e triglicerídeos (mg/dl).

As atividades enzimáticas realizadas nos órgãos (fígado, ovário, magno e útero) foram a superóxido dismutase (SOD), grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH).

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada segundo Beauchamp e Fridovich (1971). O tecido foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio 50 mM e pH 7,8 para obtenção de um homogenato a 10% e, em seguida, centrifugado a 3600 rpm por 10 minutos a 4°C . O sobrenadante foi retirado e centrifugado novamente a 12000 rpm por 20 minutos a 4°C . Em câmara escura, em 10 μL do sobrenadante foram adicionados 1mL do meio de reação (tampão fosfato de potássio 50mM, EDTA 100nM e L-metionina 13mM, pH 7,8), 150 μL do NBT 750 μM e 300 μL de riboflavina 2 μM .

Os tubos contendo a solução obtida foram expostos a lâmpada fluorescente (15W) por 15 minutos. A absorbância foi medida a 560 nm. Os resultados foram expressos em unidades da enzima, sendo a quantidade de SOD necessária para inibir a taxa de redução do NBT em 50%.

A concentração de glutatona (GSH) nos órgãos foi avaliada utilizando o ensaio para determinação de grupos sulfidrílicos não protéicos (NP-SH) (Sedlak e Lindsay, 1968). O tecido foi homogeneizado em solução gelada de EDTA (0,02M), para preparação do homogenato a 10%. Em seguida, a uma alíquota de 0,5 mL do homogenato foram adicionados 0,4 mL de água destilada e 0,1 mL de ácido tricloroacético 50% para precipitação das proteínas. Após essa etapa, o material foi centrifugado a 3000 rpm por 15 min à temperatura de 4°C. Em seguida, novas alíquotas de 0,5mL do sobrenadante foram misturados em 1 mL de tampão Tris com concentração de 0,4 M, pH 8,9 e 25 µL de DTNB 0,01 M. A absorbância foi medida em intervalo de 5 min a 412 nm contra um reagente branco (sem o homogenato). A concentração de NP-SH foi calculada através de uma curva padrão de glutatona reduzida (GSH) e os resultados expressos em µg de NP-SH/g de tecido.

A peroxidação lipídica foi determinada por estimação do malondialdeído (MDA) usando o teste do ácido tiobarbitúrico (Agar *et al.*, 1999). O tecido e o soro sanguíneo foi homogeneizado em tampão KCl 10% (pH 7,4) para preparação do homogenato a 10%. Em seguida, 250µL do homogenato foram incubados em banho maria a 37°C por 60 min. Após a incubação, foram adicionados 400 µL de ácido perclórico 35% e as amostras foram centrifugadas a 14000 rpm por 10 min. A 600 µL do sobrenadante foram adicionados 200 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%. A mistura foi levada a banho maria a 95-100°C por 30 min. Em seguida, a solução foi retirada e colocada à temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi realizada a 532 nm. A curva padrão foi obtida usando 1,1,3,3-tetrametoxipropano. Os resultados foram expressos como nanomoles de MDA por grama de tecido (nmol/g tecido).

As análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando-se o SAS (2000). Os dados de todos os tratamentos foram submetidos à análise de variância (Proc Anova, SAS), segundo delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de significância. Também, realizou-se a análise de regressão, excluindo-se os tratamentos sem adição de LCC, para se determinar o melhor nível de LCC nas rações.

Resultados e Discussão

Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros bioquímicos séricos analisados (Tabela 2).

Tabela 2. Perfil sanguíneo bioquímico de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo líquido da castanha de caju (LCC).

Tratamentos	Ác.Urico (mg/dl)	Cr (mg/dl)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Col.Total (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	TAG (mg/dl)
Sem PD	4,77	0,300	12,67	253,00	180,33	32,83	147,50	1554,00
Com PD	5,08	0,267	12,93	261,00	180,17	35,83	144,33	1517,80
0,25% de LCC	5,02	0,233	12,00	239,33	180,00	33,83	146,17	1555,50
0,50% de LCC	4,90	0,250	12,75	234,50	181,00	34,00	151,33	1498,70
0,75% de LCC	4,72	0,230	12,00	266,40	182,00	36,00	146,00	1572,50
1,00% de LCC	4,85	0,254	13,20	267,20	179,00	34,50	148,00	1555,50
Média	4,89	0,250	12,64	252,79	180,42	34,50	147,22	1538,72
Efeitos ANOVA	<i>p-valor</i>							
Tratamento	0,8307	0,3882	0,7846	0,5761	0,9916	0,5296	0,7403	0,9859
Regressão	<i>p-valor</i>							
Linear	0,4040	0,5984	0,3284	0,1436	0,8784	0,4821	0,9891	0,9787
Quadrática	0,4936	0,9718	0,6878	0,8119	0,4962	0,5122	0,5641	0,9021
CV (%)	10,95	18,18	11,05	14,85	4,39	9,47	5,38	12,32

PD - promotor de desempenho; CV – coeficiente de variação; Ác. Úrico - Ácido úrico; Cr - creatinina; ALT - alanina aminotransferase; AST - aspartato aminotransferase; Col. Total - colesterol total; TAG - triglicerídeos.

Normalmente, os constituintes bioquímicos séricos refletem as condições de saúde, nutrição, clima e manejo, as quais os animais foram submetidos (Minafra *et al.*, 2010). Dessa forma, a dosagem de parâmetros bioquímicos sanguíneos pode ser utilizada como um indicativo ao desempenho produtivo das aves e de doenças metabólicas (Rotava *et al.*, 2008). Assim, como os níveis sanguíneos de ácido úrico e creatinina das aves não foram influenciados pelos níveis de LCC na ração, pode-se afirmar que não houve um comprometimento das funções renais, segundo Konan *et al.* (2007). Além disso, não houve comprometimento das funções hepáticas, visto não terem ocorrido alterações na atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). Baseados nesses resultados pode-se sugerir que o LCC nos níveis utilizados na ração não foi tóxico para as poedeiras.

Considerando que a atividade antioxidante dos ácidos anacárdicos em grande parte vem da sua capacidade de inibir várias enzimas oxidativas, como a xantina

oxidase que é uma enzima responsável pela conversão da xantina e hipoxantina em ácido úrico (Masuoka e Kubo, 2004; Trevisan *et al.*, 2006), poderia ocorrer redução dos níveis sanguíneos de ácido úrico confirmando a inibição da xantina oxidase. Por outro lado, a inibição dessa enzima poderia ser um problema para as aves, cuja principal forma de excreção do nitrogênio se dá na forma de ácido úrico. Vale ressaltar que os efeitos inibidores sobre essa enzima têm sido relatados para ratos e que ainda não está claro como ácido anacárdico ou seus metabólitos podem regular esta atividade enzimática celular, sendo necessários mais estudos para compreender a ação do ácido anacárdico sobre essa enzima (Kubo *et al.*, 2006).

Toyomizu *et al.* (2003) observaram que a suplementação com ácido anacárdico (0,1%) na dieta de ratos não teve efeito nos níveis de creatinina e de AST sanguíneos dos ratos, sugerindo que seria improvável ocorrer a disfunção renal ou hepática por meio de suplementação dietética de ácido anacárdico. Enquanto, Konan *et al.* (2007), tratando ratos com extrato hidroetanólico do caju (1000 mg/kg), observaram que o nível de creatinina aumentaram significativamente, sugerindo que o rim pode ter sido protegido pelo extrato de hidroetanólico do caju, mas a avaliação dos níveis sérico de ALT e AST não alterou entre os tratamentos. Por outro lado, Soiefer e Rauckman (2001) mostraram que o extrato bruto de *Anacardium occidentale* promoveu toxicidade aguda em ratos, sendo estimada dose letal a superior a 2000 mg/kg de peso vivo.

A presença dos flavonóides no LCC pode promover diversos mecanismos de ação sobre o metabolismo lipídico (Deszcz e Kozubek, 2000). O ácido anacárdico, substância mais abundante no LCC, é um composto fenólico derivado de ácido salicílico e, portanto, a sua atividade tem sido comparada com a do ácido acetil salicílico (ASA). Dessa forma, a redução no nível de colesterol total no sangue de ratos que foram suplementos com 0,1% de ácido anacárdico na dieta foi reportada por Toyomizu *et al.* (2003). Por sua vez, Mohammed (2010) observou redução significativa nos níveis de colesterol sanguíneos de poedeiras que beberam água com ASA e sugeriram que a adição de ASA pode reduzir o estresse do animal submetido à alta temperatura ambiente por redução da liberação de corticosterona sérica, afetando o metabolismo lipídico. Nesse contexto, considerando que as concentrações séricas de colesterol total, HDL, LDL e triglicérides não foram alterados pelos os níveis de LCC utilizados na ração, a possibilidade de efeito hipolipidêmico do LCC em animais não se confirmou para as poedeiras.

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos sobre os níveis de superóxido dismutase (SOD) e de grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH) do fígado, ovário, magno e útero (Tabela 3).

Tabela 3. Níveis de superóxido dismutase (U/g de proteína) e de grupos sulfidrílicos não-protéicos ($\mu\text{g/g}$ de tecido) no fígado, ovário, magno e útero de poedeiras comerciais alimentadas com rações com líquido da castanha de caju (LCC).

Tratamentos	Fígado		Ovário		Magno		Útero	
	SOD	NP-SH	SOD	NP-SH	SOD	NP-SH	SOD	NP-SH
Sem PD	0,168	156,60	0,363	37,48	0,208	37,09	0,294	73,94
Com PD	0,189	144,66	0,422	37,00	0,178	36,21	0,306	82,71
0,25% de LCC	0,177	170,10	0,416	36,15	0,211	38,72	0,305	82,54
0,50% de LCC	0,151	153,63	0,388	34,48	0,212	47,33	0,319	79,81
0,75% de LCC	0,164	171,68	0,420	35,20	0,212	47,24	0,310	78,99
1,00% de LCC	0,164	168,20	0,408	37,83	0,193	42,31	0,286	74,79
Média	0,171	161,90	0,403	36,30	0,201	41,49	0,304	80,80
Efeitos ANOVA	<i>p-valor</i>							
Tratamento	0,3827	0,6624	0,1337	0,5330	0,0608	0,1587	0,8692	0,5867
Regressão	<i>p-valor</i>							
Linear	0,6027	0,7613	0,8261	0,7873	0,4418	0,0565	0,2579	0,9085
Quadrática	0,6900	0,7409	0,8215	0,5602	0,3214	0,0607	0,2235	0,7748
CV (%)	15,19	19,09	10,16	9,57	10,70	19,18	15,18	13,08

PD - promotor de desempenho; CV – coeficiente de variação; SOD - Níveis de superóxido dismutase e NP-SH - grupos sulfidrílicos não-protéicos.

Entre as ações biológicas do ácido anacárdico tem sido relatado que ele pode atuar como antioxidante, inibindo várias enzimas pró-oxidantes que estão envolvidas na produção de espécies reativas de oxigênio (Ha e Kubo, 2005; Sun *et al.*, 2006; Green *et al.*, 2007), agindo diretamente na quelação de íons metálicos (Kubo *et al.*, 2006; Tsujimoto *et al.*, 2007) e prevenindo a geração de ânion superóxido (Masuka e Kubo, 2004; Kubo *et al.*, 2006; Trevisan *et al.*, 2006). Assim, a atividade antioxidante do ácido anacárdico ocorre impedindo a formação dos radicais livres, agindo como uma primeira linha de defesa e, para isso, o ácido anacárdico, ou os seus metabólitos, precisam atingir os locais onde as enzimas estão localizadas nos sistemas vivos e regular a atividade da enzima para impedir a geração de radicais desnecessários (Kubo *et al.*, 2006).

Desse modo, como não foram observadas diferenças nos níveis de SOD e NP-SH entre os tratamentos, pode-se inferir que as defesas antioxidantes endógenas foram suficientes para impedir o estresse oxidativo ou que o efeito antioxidante do ácido

anacárdico não pode ser evidenciado, possivelmente, devido à ausência de fatores que levassem ao organismo das aves a apresentar estresse oxidativo. Por outro lado, pode-se afirmar que os níveis de LCC utilizados na ração das poedeiras não promoveram efeitos tóxicos que fossem significativos aos níveis de NP-SH no fígado, fato que foi confirmado nos parâmetros bioquímicos sanguíneos.

Diferente do observado para as poedeiras, Kubo *et al.* (2006) demonstraram que uma concentração de 30 $\mu\text{L/mL}$ de ácido anacárdico foi capaz de inibir 82% da formação de ânion superóxido utilizando um ensaio com a enzima xantina oxidase. Ling (2006) observou aumento da atividade da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx) no soro de ratos diabéticos tratados por três semanas com o extrato aquoso de folhas do *Anacardium occidentale* L. (50, 250, 500 e 1000 mg/kg de peso vivo). Morais *et al.* (2010) observaram que o ácido anacárdico (10, 30 e 100 mg/kg de ração) foram capazes de restaurar a SOD e os NP-SH em secreções gástricas de ratos esgotados por etanol, promovendo a proteção gástrica. Os possíveis mecanismos para esses efeitos bem estabelecidos dos ácidos anacárdicos estão relacionado à cadeia lateral de 15 carbonos e ao grau de insaturações ligados ao anel benzeno na sua estrutura química e na atividade das enzimas (Carvalho *et al.*, 2011).

A análise das substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que mede a formação de produtos secundários da oxidação como o malondialdeído (MDA), é o método mais comumente utilizado para avaliar a peroxidação lipídica (Esterbauer, 1993) e, portanto, pode ser utilizado para determinar a extensão do dano oxidativo de membranas celulares. Assim, a atividade antioxidante dos ácidos anacárdicos nos órgãos também foi medida pela dosagem de TBARS e conforme os resultados (Tabela 4) não houve diferenças significativas entre os tratamentos nos valores de TBARS determinados no soro sanguíneo, fígado, magno e útero, porém foi observada diferença significativa nos valores de TBARS no ovário das aves. Na comparação entre as médias, os níveis de 0,75% e 1,00% de LCC proporcionaram menor valor de TBARS no ovário, enquanto, o tratamento sem promotor de desempenho proporcionou maior valor de TBARS. A adição de promotor de desempenho, bem como os níveis de 0,25 e 0,50% de LCC resultaram em valor intermediário de TBARS em relação às aves com 0,75 e 1,00%.

Tabela 4. Valores de TBARS (mg de MDA/g de tecido) do soro, fígado, ovário, magno e útero de poedeiras comerciais alimentadas com rações com líquido da castanha de caju (LCC).

Tratamentos	Soro	Fígado	Ovário	Magno	Útero
Sem PD	14,89	8,15	14,48a	12,11	11,10
Com PD	16,73	7,68	13,20b	12,19	9,87
0,25% de LCC	15,56	7,86	13,02b	12,25	9,74
0,50% de LCC	15,89	7,33	12,72b	12,33	10,02
0,75% de LCC	15,61	7,43	11,48c	12,87	9,81
1,00% de LCC	15,89	7,44	11,58c	13,47	9,56
Média	15,71	7,65	12,73	12,51	10,04
Efeitos ANOVA			<i>p-valor</i>		
Tratamento	0,7831	0,7841	<0,0001	0,6107	0,1848
Regressão			<i>p-valor</i>		
Linear	0,8419	0,4070	0,1081	0,8985	0,6023
Quadrática	0,8316	0,4843	0,3568	0,7016	0,5249
CV (%)	12,32	13,09	6,31	10,60	10,25

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste SNK, a 5% de probabilidade. TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; PD - promotor de desempenho; CV – coeficiente de variação.

Estudos em animais e humanos têm demonstrado a presença de espécies reativas de oxigênio (EROS) no trato reprodutivo de fêmeas em locais como ovários (Behrman *et al.*, 2001), devido ao intenso metabolismo de células da granulosa e o aumento no número de macrófagos e granulócitos neutrófilos na parede folicular em ovulação (Kheradmand *et al.*, 2010). Desse modo, as EROS estão envolvidos na perda da sensibilidade das células da granulosa aos hormônios gonadotrópicos e na perda da função esteroidogênica, ocasionando a atresia folicular o que pode levar a redução na produção de ovos (Margolin *et al.*, 1990). Portanto, a adição de antioxidantes à ração de poedeiras é um recurso importante para reduzir esses efeitos, conforme demonstrado na presente pesquisa, em que o maior nível de TBARS foi determinado no ovário das poedeiras que não receberam antioxidante na ração, sendo reduzido no tratamento que recebeu a adição de antioxidante sintético BHT e do LCC e apresentando menor valor a partir de 0,75% de inclusão de LCC

A menor peroxidação lipídica no ovário pode estar relacionada ao efeito antioxidante promovido pelas substâncias presentes no LCC, principalmente do ácido anacárdico, seu maior constituinte, cuja ação antioxidante foi comprovada por diversos pesquisadores (Masuka e Kubo, 2004; Ha e Kubo, 2005; Ling, 2006; Kubo *et al.*, 2006;

Sun *et al.*, 2006; Trevisan *et al.*, 2006; Green *et al.*, 2007; Tsujimoto *et al.*, 2007; Fazali *et al.*, 2011; Gometi *et al.*, 2014). Deszcz e Kozubek (2000) observaram que os alquilresorcinóis presentes no LCC, em concentrações micromolares, comportam-se como antioxidantes ativos, protegendo os ácidos graxos livres e fosfolipídios contra a peroxidação induzida por íon ferro, auto-oxidação de ácidos graxos insaturados e triglicerídeos, assim como da oxidação das membranas biológicas.

Embora os outros constituintes do LCC em maior proporção (cardóis e cardanóis) depois do ácido anacárdico, tenham merecido atenção de pesquisas para uso industrial, a falta de informações de seus efeitos sobre os animais era uma preocupação. Entretanto, os resultados obtidos na presente pesquisa são um indicativo que estes não causaram problemas de toxicidade e podem até ter contribuído para a ação antioxidante do LCC, visto que, segundo Andrade *et al.* (2011), o LCC técnico, constituído de 40,26% de cardanol, 29,95% de cardol, 10,68% de fitosteróis, 4,66% de triacontanes e 1,79% de ácido anacárdico, na concentração de 100–500 µg/mL, exerceu ação protetora contra o estresse oxidativo em levedura quando esta foi exposta ao paraquat ou H₂O₂, indicando o seu efeito antioxidante *in vivo*.

Conclusões

A adição de até 1,00% do líquido da castanha de caju, como fonte de ácido anacárdico na ração das poedeiras, não influencia os parâmetros bioquímicos do sangue e a atividade das enzimas no fígado, ovário magno e útero.

A adição de LCC na ração reduziu a peroxidação lipídica no ovário a partir da inclusão de 0,75% de LCC.

Referências Bibliográficas

AGAR, I.T.; MASSANTINI, R.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A.A. Postharvest CO₂ and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut kiwifruit slices. **Journal of Food Science**. v. 64, p. 433–440, 1999.

ANDRADE, T.J.A.S.; ARAÚJO, B.Q.; CITO, A.M.G.L.; SILVA, J.; SAFFI, J.; RICHTER, M.F.; FERRAZ, A.B.F. Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, v. 126, p. 1044–1048, 2011.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical biochemistry**, v. 44(1), p. 276-287, 1971.

BEHRMAN, H.R.; KODAMAN, P.H.; PRESTON, S.L.; GAO, S. Oxidative stress and the ovary. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, v. 8, p.40-42, 2001.

CARVALHO, A.L.N.; ANNONI, R.; SILVA, P.R.P.; BORELLI, P.; FOCK, R.A.; TREVISAN, M.T.S.; MAUAD, T. Acute, subacute toxicity and mutagenic effects of anacardic acids from cashew in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 135, n. 3, 730-736, 2011.

CHAVES, M.H.; CITÓ, A.M.G.L.; LOPES, J.A.D.; COSTA, D.A.D.; OLIVEIRA, C.A.A.D.; COSTA, A.F.; BRITO JÚNIOR, F.E.M.. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 20, p. 106-112, 2010.

DESZCZ, L.; KOZUBEK, A. Higher cardol homologs (5-alkylresorcinols) in rye seedlings. **Biochimica et Biophysica Acta** v. 1483, p. 241-250. 2000.

ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipidoxidation products. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n.5, p. 779-785, 1993.

FAZALI, F.; ZULKHAIRI, A.; NURHAIZAN, M.E.; KAMAL, N.H.; ZAMREE, M.S.; SHAHIDAN, M.A. Phytochemical screening, in vitro and in vivo antioxidant activities of aqueous extract of *Anacardium occidentale* Linn and its effects on endogenous antioxidant enzymes in hypercholesterolemic induced rabbits. **Research Journal of Biological Sciences**, v. 6, p. 69-74, 2011.

FREITAS, E. R.; BORGES, Â.S.; TREVISAN, M. T. S.; CUNHA, A. L.; BRAZ, N.M., WATANABE, P. H.; NASCIMENTO, G. A. J. Extratos etanólicos de manga como antioxidantes na alimentação de poedeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48(7), p. 714-721, 2013.

GOMETI, A.S.; OGUGUA, V.N.; JOSHUA, P.E.; ODO, C.E.; NDUKA, F.O.; ORHONIGBE, I.O.. Anti-oxidative potentials of some medicinal plants on lipid peroxidation in alloxan-induced diabetic rats. **African Journal of Biotechnology** v.13, n. 1, p.156-162, 2014.

GREEN, I.R.; TOCOLI, F.E. LEE, S.H.; NIHEI, K.I.; KUBO, I. Molecular design of anti-MRSA agents based on the anacardic acid scaffold. **Bioorganic & medicinal chemistry** 15, n.18, p. 6236-6241, 2007.

HA, T.J.; KUBO, I. Lipoxigenase inhibitory activity of anacardic acids. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 53, 4350-4354, 2005.

KHERADMAND, A.; ALIREZAEI, M.; BIRJANDI, M. Ghrelin promotes antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in the rat ovary. **Regulatory peptides** 162, n. 1, 84-89, 2010.

KONAN, N.A.; BACCHI, E.M. Antiulcerogenic effect and acute toxicity of a hydroethanolic extract from the cashew (*Anacardium occidentale*) leaves. **Journal of ethnopharmacology** 112, n. 2, p. 237-242, 2007

KUBO, I.; MASUOKA, N.; HA, T.J.; TSUJIMOTO K. Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chemistry** 99, n. 3, p. 555-562, 2006.

KUMAR, P.P.; PARAMASHIVAPPA, R.; VITHAYATHIL, P.J.; SUBBA RAO, P.V.; SRINIVASA RAO, A. 2002. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale*.) nut shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 50, p. 4705-4708, 2002.

LING, L. Hypoglycemic and Antioxidative Effects of *Anacardium Occidentale* Linn. In Diabetic Rats. Doctoral thesis. Universiti Putra Malaysia, Malaysia, 2006.

LÓPEZ, C.A.A.; LIMA, K.R.S.; MANNO, M.C.; TAVARES, F.B.; FERNANDES NETO, D.L.; JESUS M.L.C.; VIANA, M.A.O. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64(4), p.1027-1035, 2012.

MANUAL de manejo Hisex White 2008 Cascavel: Interaves, Paraná, Brasil. 55.

MARGOLIN, Y.; ATEN, R.F.; BEHRMAN, H.R. Antigonadotropic and antisteroidogenic actions of peroxide in rat granulosa cells. **Endocrinology** 127, p. 245-250, 1990.

MASUOKA, N.; KUBO, I. Characterization of xanthine oxidase inhibition by anacardic acids. **Biochimica et Biophysica Acta** 1688, p. 245-249, 2004.

MINAFRA, C.S.; MARQUES, S.F.F.; STRINGHINI, J.H.; ULHOA, C.J.; REZENDE, C.S.M.; SANTOS, J.S.; MORAES, G.H.K.D. Biochemical serum profile of broilers fed diets supplemented with alfa-amylase from *Cryptococcus flavus* and *Aspergillus niger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia** 39, n. 12, p. 2691-2696, 2010.

MOHAMMED, A. A. Effect of acetyl salicylic acid (ASA) in drinking water on productive performance and blood characteristic of layer hens during heat stress. **International Journal of Poultry Science** 9, n. 4, p. 382-385, 2010.

MORAIS, T.C.; PINTO, N.B.; CARVALHO, K.M.M.B.; RIOS, J.B.; RICARDO, N.M.P.S.; TREVISAN, M.T.S.; RAO, V.S.; SANTOS, F.A. Protective effect of anacardic acids from cashew (*anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. **Chemico-biological interactions** 183, p. 264-269, 2010

ODUNSI, A.A.; OYEWOLE, S.O. Response of broiler chicks to diets containing varying levels of cashew nut oil and palm oil. **Ghana Journal of Agricultural Science** 29, p. 59-63, 1996.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C. **Tabelas brasileiras para aves e suínos:**

composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa, MG: UFV, Brasil, 252, 2011.

ROTAVA, R.; ZANELLA, I.; KARKOW, A.K.; DULLIUS, A.P.; SILVA, L.P.D.; DENARDIN, C.C. Bioquímica sanguínea de frangos de corte alimentados com subprodutos da uva. **Agrarian** 1, n. 1, p.91-104, 2008.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical biochemistry** 25, p.192-205, 1968.

SOIEFER, A.I.; RAUCKMAN, E.J. Toxicity associated with single chemical exposures. In: Toxicology Testing Handbook. Principles, Applications, and Data Interpretation. Jacobbson-Kram, D., Keller, A.K. (Eds.), 19–22, New York, 2001.

SUN, Y.; JIANG, X.; CHEN, S.; PRICE, B.D. Inhibition of histone acetyltransferase activity by anacardic acid sensitizes tumor cells to ionizing radiation. **Federation of European Biochemical Societies** 580, p. 4353–4356, 2006.

TOYOMIZU, M.; OKAMOTO, K.; ISHIBASHI, T.; NAKATSU, T.; AKIBA, Y. Reducing effect of dietary anacardic acid on body fat pads in rats. **Animal Science Journal** 74, n. 6, p. 499-504, 2003.

TOYOMIZU, M.; OKAMOTO, M.; ISHIBASHI, T.; CHEN, Z.; NAKATSU, T. Uncoupling effect of anacardic acids from cashew nut shell oil on oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria. **Life Sciences** 66, p. 229–234, 2000.

TREVISAN, M.T.S.; PFUNDSTEIN, B. HAUBNER, R.; WÜRTELE, G.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H.; OWEN, R.W. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology** 44, p.188–197, 2006.

TSUJIMOTO, K.; HAYASHI, A.; HA, T.J.; KUBO, I. Anacardic acids and ferric ion chelation. **Zeitschrift für Naturforschung C.** 62:710-6, 2007.

CAPÍTULO III

Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras alimentadas com líquido da castanha de caju como fonte de ácido anacárdico

Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras alimentadas com líquido da castanha de caju como fonte de ácido anacárdico

RESUMO - A pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão do líquido da castanha de caju (LCC) na ração de poedeiras comerciais sobre o desempenho e a qualidade dos ovos. Um total de 216 poedeiras comerciais Hisex White foi distribuído ao acaso em seis tratamentos, com seis repetições de seis aves. Os tratamentos consistiram em: ração sem promotor de desempenho (PD); ração com PD e rações sem PD e adição de níveis crescente de LCC (0,25; 0,50; 0,75 e 1,00%). A adição de LCC na ração não influenciou as variáveis de desempenho e características dos ovos. No entanto, a cor da gema pelo leque colorimétrico foi superior aos tratamentos sem o PD e com 0,75% de LCC na ração e inferior no tratamento com PD. Pela análise de regressão houve efeito quadrático ($Y = 7,056 + 2,129X - 1,72X^2$, $R^2 = 0,69$) significativo dos níveis de inclusão de LCC sobre a coloração da gema medida pelo leque colorimétrico da DSM, com o melhor nível estimado para 0,62%. O componente de cor a^* foi superior no nível de 0,50% de LCC, enquanto o tratamento com o PD obteve o menor valor. Foi observado efeito quadrático na oxidação lipídica na gema do ovo recém-posto, atingindo o mínimo de 0,58% de LCC na ração. Na comparação entre as médias, o nível de 0,75% de LCC apresentou menor valor de TBARS, enquanto os tratamentos com PD, sem PD e com o nível de 1,00% de LCC apresentaram maiores valores de TBARS. A adição de até 1,00% do LCC, como fonte de ácido anacárdico na ração das poedeiras, não influencia o desempenho e a qualidade de ovos, mas melhora a cor da gema do ovo e o nível de 0,75% de LCC é efetivo em reduzir a oxidação lipídica das gemas frescas.

Palavras-chave: antioxidante natural, desempenho, oxidação lipídica, qualidade dos ovos.

Performance and egg quality of laying hens fed cashew nut shell liquid as a source of anacardic acid

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the effects of adding the cashew nut shell (CNSL) in the diet of laying hens on performance, quality and stability of lipid eggs. A total of 216 laying hens Hisex White were randomly distributed into six treatments with six replicates of six birds. The treatments were: diet without performance promoter (PP); diet with PP; diet without PP; diet with addition of increasing levels of CNSL without PP (0.25, 0.50, 0.75 and 1.0% CNSL). The addition of CNSL in the diet did not influence the performance variables and characteristics of eggs. However, the color of the yolk was superior to treatment with and without PD CNSL 0.75% in the feed in the bottom and PP treatment. Regression analysis showed a significant quadratic effect ($Y = 7,056 + 2,129X - 1,72X^2$, $R^2 = 0,69$) of dietary inclusion of CNSL on yolk color measured by DSM color fan, with the best estimated level to 0.62%. The color component a^* was superior level of 0.50% CNSL, while treatment with PD had the lowest value. The lipid oxidation in ovarian follicles showed no significant differences, however quadratic effect was observed in egg yolk newly post, reaching a minimum of 0.58% in the feed LCC. Comparing the average level of 0.75% CNSL showed the lowest TBARS, while treatments with PD without PD and the level of 1.00% CNSL had higher TBARS values. We conclude that the CNSL addition does not affect the performance and egg quality, but improves the color of egg yolk and that the level of 0.75% of CNSL is effective in reducing lipid oxidation of fresh yolk.

Keywords: natural antioxidant, performance, lipid oxidation, egg quality.

Introdução

Por muitos anos a principal forma de controle de enfermidades bacterianas em granjas avícolas eram os aditivos antibióticos. No entanto, o uso constante desses aditivos passou a ser visto como fator de risco para a saúde humana devido ao seu possível papel na ocorrência de resistência microbiana.

Diante da remoção dos antibióticos promotores de desempenho em dietas de aves em diferentes partes do mundo, vem aumentando o interesse em pesquisar possíveis alternativas para manter o bom desempenho e para controlar o crescimento de bactérias entéricas nocivas. Nesse contexto, os ácidos orgânicos vêm se destacando como uma possível alternativa aos antibióticos (Lückstädt, 2007), principalmente aqueles extraídos de partes de plantas como o ácido anacárdico presente no líquido da castanha de caju (LCC).

O líquido da casca da castanha de caju (LCC) corresponde a um líquido escuro, cáustico e inflamável extraído do fruto do cajueiro que representa 25% do peso da castanha e se constitui em uma das fontes mais ricas em lipídeos fenólicos isopropenóides de origem natural (Mazzetto *et al.*, 2009). Em cerca de 90% da composição do LCC é de ácido anacárdico (derivado do ácido salicílico) e alquilresorcinóis (cardóis e cardanóis), sendo o ácido anacárdico o principal composto ativo do LCC.

Algumas ações biológicas deste ácido têm sido observadas, como atividade antitumoral, antibacteriana, antifúngica, habilidade de inibir algumas enzimas (tirosinase, prostaglandina sintase e lipoxigenase) e como antioxidante (Toyomizu *et al.*, 2003).

Himejima e Kubo (1991) e Muniz *et al.* (2006) demonstram que os ácidos anacárdicos apresentam atividade antibacteriana sobre bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, leveduras e fungos. Como atividade antioxidante, Toyomizu *et al.* (2000) afirmam que os ácidos anacárdicos estão associados a prevenção dos danos oxidativos na mitocôndria do fígado de ratos. Trevisan *et al.* (2006) sugerem que esse ácido atua evitando que íons metálicos de transição comecem o processo de oxidação inativando os intermediários desse processo e ainda inibindo muitas enzimas que auxiliam o processo de oxidação.

Em frangos de corte, Toyomizu *et al.* (2003) demonstraram efeito benéfico do ácido anacárdico na prevenção das lesões provocadas pela coccidiose. Enquanto, López *et al.* (2012) relataram que a adição de LCC em ração na dose de 0,40 mL/kg de ração,

proporcionou desempenho semelhante ao obtido com o antibiótico virginiamicina e reduziu a concentração de *Escherichia Coli* no conteúdo intestinal. No entanto, Odunsi e Oyewole (1996) constataram que a adição de LCC na ração dessas aves em níveis acima de 1% prejudicou o desempenho. Entretanto, ainda não se conhece a viabilidade de uso e os efeitos desse ácido orgânico no desempenho zootécnico das poedeiras.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da inclusão do líquido da castanha de caju (LCC) na ração de poedeiras comerciais sobre o desempenho, a qualidade e a estabilidade lipídica dos ovos.

Material e Métodos

Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo no 23/2013 de 24 de julho de 2013, e está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus do Pici, Fortaleza - Ceará, no Setor de Avicultura.

Para condução do experimento foram utilizadas 216 poedeiras comerciais Hisex White, com 40 semanas de idade, alojadas em gaiolas de arame galvanizado (25x40x30 cm), à densidade de duas aves por gaiola. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições de seis aves por tratamento. Os tratamentos aplicados foram: T1 - controle negativo - ração sem promotor de desempenho (PD); T2 - controle positivo - ração com promotor de desempenho; T3 - ração com adição de 0,25% de líquido da casca da castanha de caju (LCC) e sem promotor de desempenho; T4 - ração com adição de 0,50% de LCC e sem promotor de desempenho; T5 - ração com adição de 0,75% de LCC e sem promotor de desempenho; T6 - ração com adição de 1,00% de LCC e sem promotor de desempenho.

As rações experimentais (Tabela 1) utilizadas eram isonutrientes e isoenergéticas, de acordo com as exigências nutricionais das aves, pelas recomendações do manual de manejo da linhagem (Manual de manejo Hisex White, 2008) e conforme os valores de composição dos alimentos propostos por Rostagno *et al.* (2011).

Tabela 1. Composição das rações experimentais.

Ingredientes (%)	Controle sem PD	Controle com PD	Níveis de líquido da castanha de caju (%)			
			0,25	0,50	0,75	1,00
Milho	61,40	61,40	61,40	61,40	61,40	61,40
Farelo de soja	26,15	26,15	26,15	26,15	26,15	26,15
Óleo de soja	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
Calcário calcítico	8,79	8,79	8,79	8,79	8,79	8,79
Fosfato bicálcico	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
DL-metionina	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
Vitamina para postura ¹	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Mineral para postura ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal comum	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Inerte (areia lavada)	1,00	0,97	0,75	0,50	0,25	0,00
Halquinol 60%	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Enramicina - 8%	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Antioxidante ³	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
LCC	0,00	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Composição nutricional e energética

Energia metabolizável (kcal/kg)	2.700	2.700	2.700	2.700	2.700	2.700
Proteína bruta (%)	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00
FDN (%)	10,84	10,84	10,84	10,84	10,84	10,84
FDA (%)	4,31	4,31	4,31	4,31	4,31	4,31
Ácido linoleico (%)	1,53	1,53	1,53	1,53	1,53	1,53
Cálcio (%)	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90	3,90
Fósforo disponível (%)	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Fósforo total (%)	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62
Sódio (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Lisina digestível (%)	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Metionina digestível (%)	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Met + cistina digestível (%)	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Treonina digestível (%)	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57
Triptofano digestível (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18

¹Vitamina (quantidade fornecida por quilograma do produto): vitamina A - 20.000.000 UI/kg; vitamina D3 - 7.000.000 UI/kg; vitamina E - 80.000 mg/kg; vitamina K3 (Menadiona) - 4.000 mg/kg; vitamina B1 - 3.000 mg/kg; vitamina B2 - 10.000 mg/kg; vitamina B6 - 6.000 mg/kg; vitamina B12 - 20.000 mcg/kg; vitamina C - 300 mg/kg; niacina - 60.000 mg/kg; ac. pantotênico - 20.000 mg/kg; biotina - 50 mg/kg; ac. fólico - 1.000 mg/kg; selênio - 600 mg/kg. ²Minerais (quantidade fornecida por quilograma do produto): ferro - 50.000 mg/kg; cobalto - 200 mg/kg; cobre - 10.000 mg/kg; zinco - 60.000 mg/kg; manganês inorgânico - 80.000 mg/kg; iodo - 1.000 mg/kg. ³Banox: BHA, BHT, Propilgalato - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.

Para obtenção do LCC (líquido da casca da castanha de caju) foram adquiridas castanhas de caju no mercado local e levadas ao Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica do Centro de Ciência da Universidade

Federal do Ceará, onde foram submetidas ao aquecimento em estufa a 175 °C por 45 minutos para a liberação do LCC e coleta, conforme Trevisan *et al.* (2006). Em 100 g de castanha foi obtido 30 g de LCC, em que 50% deste LCC continha uma mistura de ácidos anacárdicos, 30% de cardanol e 20% de cardol.

O período experimental foi de 105 dias divididos em cinco períodos de 21 dias cada. As aves receberam ração e água à vontade durante todo período experimental, com iluminação de 16 horas diárias de luz. Os comedouros foram abastecidos duas vezes ao dia, no início da manhã e ao final da tarde.

Diariamente, durante todo o período experimental, a temperatura e umidade relativa do ar dentro do galpão foram medidas com termômetro de máxima e mínima e psicrômetro, respectivamente. Os dados foram registrados diariamente e as leituras realizadas às 8:00 e 16:00 horas. No final do experimento os valores médios obtidos da temperatura mínima e máxima e umidade relativa do ar no galpão foram $26,82 \pm 1,56$ °C, $30,33 \pm 1,40$ °C e 70%, respectivamente.

As variáveis de desempenho avaliadas foram: consumo de ração (g/ave/dia), produção de ovos (%/ave/dia), conversão alimentar (g de ração/g de ovo), peso do ovo (g) e massa de ovo produzida (g/ave/dia).

O consumo de ração foi calculado pela diferença entre a quantidade de ração ofertada e a sobra ao final de cada período. A produção de ovos foi registrada diariamente por gaiola e, ao final de cada período foram calculadas as percentagens de postura. Com base nos dados de consumo de ração e produção de ovos foi realizado o cálculo de conversão alimentar. A determinação do peso médio dos ovos (g) foi realizada dividindo-se o peso total dos ovos coletados pelo número de ovos postos por cada repetição. A pesagem dos ovos foi realizada uma vez por semana em balança eletrônica de precisão (0,01g). A massa de ovos foi calculada pela multiplicação do peso médio dos ovos pela percentagem de postura.

Para a avaliação da qualidade dos ovos, durante todo períodos experimental, uma vez por semana todos os ovos de cada parcela foram coletados, identificados e avaliados em função das variáveis: percentagens (%) de gema, albúmen e casca, Unidades Haugh (UH), densidade específica (g/cm³), espessura da casca (mm) e cor de gema.

Para as análises de qualidade, foram selecionados aleatoriamente três ovos por parcela evitando-se os ovos quebrados, trincados ou sujos. Inicialmente, determinou-se a gravidade específica (GE) dos ovos, conforme Freitas *et al.* (2004), em que foi montado o sistema de pesagem dos ovos sobre balança eletrônica (0,01g), para pesagem

do ovo no ar e na água. Os valores de pesos obtidos foram anotados para o cálculo da GE através da equação $GE=PO/ (PA \times F)$, onde: PO = peso do ovo no ar, PA = peso do ovo na água e F = fator de correção da temperatura. Após a determinação da GE, os ovos foram quebrados sobre uma superfície de vidro para a determinação da altura do albúmen, por meio de um micrômetro de profundidade. Os dados da altura do albúmen e do peso dos ovos foram utilizados no cálculo do valor da unidade Haugh (UH), pela equação $UH = 100 \log (H + 7,57 - 1,7 W^{0,37})$, em que H é a altura do albúmen (mm), e W é o peso do ovo (g).

Para determinar as proporções (%) de cada constituinte nos ovos, as gemas foram separadas e pesadas em balança de precisão, e as cascas foram lavadas, postas para secar à temperatura ambiente por 48 horas, e então pesadas. As proporções de gema e casca foram obtidas pela relação entre o peso de cada porção e o peso do ovo, e a de albúmen foi determinada por diferença: albúmen = 100 - (gema + casca).

As gemas foram avaliadas quanto à cor, através da comparação visual com o leque colorimétrico da DSM e através de medição objetiva mediante colorímetro Minolta CR300, Tokyo, operando no sistema CIE (L*, a* e b*). Sendo L* a luminosidade, a* a intensidade da cor vermelha e b* a intensidade da cor amarela. Para tal, a sonda de medição foi colocada em contato com a superfície da gema após um minuto da quebra do ovo fresco. A calibração do aparelho foi realizada por meio de placa de cerâmica branca, utilizando-se o iluminante D₆₅.

Para determinar a espessura da casca dos ovos, após a pesagem das cascas, foram retirados fragmentos de casca dos pólos maior e menor e região equatorial dos ovos para medida da espessura da casca em cada região com o uso de micrômetro digital com divisões de 0,01mm. A espessura da casca foi considerada como a média da espessura obtida nas três regiões do ovo.

A oxidação lipídica foi avaliada através da determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), utilizando-se o método de extração ácido aquosa (Cherian *et al.*, 2002) em gemas *in natura*. No final do período de experimental, foram coletados três ovos de cada repetição, onde as gemas foram separadas da clara, colocadas em béquer, homogêneas e levadas para análise. O número de substâncias reativas na amostra foi expresso como miligrama de malonaldeído por quilograma de gema.

As análises estatísticas dos dados foram realizadas com o SAS (2000). Os dados de todos os tratamentos foram submetidos à análise de variância (Proc Anova, SAS), segundo delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade. Também, realizou-se a análise de regressão, excluindo-se os tratamentos sem adição de LCC, para se determinar o melhor nível de LCC nas rações.

Resultados e Discussão

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para todas as variáveis de desempenho avaliadas, o que indica que a inclusão de LCC na ração não melhorou ou prejudicou o desempenho das poedeiras, assim como, a adição ou não de promotor de desempenho antibiótico (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com rações com líquido da castanha de caju (LCC).

Tratamentos	Consumo de ração (g/ave/dia)	Produção (%/ave/dia)	Peso do ovo (g)	Massa de ovo (g/ave/dia)	Conversão alimentar (g/g)
Sem PD	105,61	93,54	61,63	57,63	1,84
Com PD	103,34	96,95	60,37	58,52	1,77
0,25% de LCC	103,79	94,55	59,94	56,69	1,83
0,50% de LCC	105,43	94,40	60,66	57,25	1,84
0,75% de LCC	102,88	93,08	59,67	55,59	1,86
1,00% de LCC	103,71	93,09	60,02	55,85	1,86
Média	104,13	94,27	60,38	56,92	1,83
Efeitos ANOVA			<i>p-valor</i>		
Tratamento	0,4727	0,0863	0,4240	0,2093	0,0608
Regressão			<i>p-valor</i>		
Linear	0,6255	0,1843	0,8133	0,3011	0,3401
Quadrática	0,7573	0,9318	0,8007	0,8665	0,9051
CV (%)	2,75	2,58	2,82	3,85	2,95

PD - promotor de desempenho; LCC - líquido da castanha de caju; CV – coeficiente de variação.

Os resultados obtidos com a adição de LCC podem ser vistos como um indicativo de que os níveis utilizados não interferem no aproveitamento dos nutrientes da ração e que a administração do LCC permitiu o desenvolvimento e o crescimento normais dos animais, excluindo a possibilidade de efeitos tóxicos ou antinutricionais do aditivo.

Além disso, não altera a palatabilidade da ração de modo a influenciar no consumo de ração.

Por outro lado, a ausência de efeitos do tratamento sem o promotor de desempenho sobre o desempenho das aves é um indicativo de que as aves não sofreram nenhum desafio sanitário que pudesse afetar o desempenho, o que dificultou a avaliação de uma possível resposta das aves a uma das ações biológicas benéficas do LCC. De acordo com Cromwell (1991), o efeito benéfico dos antibióticos promotores de desempenho é maior em condições de campo, com respostas duas vezes maiores que as observadas em estações experimentais, por causa das diferenças de higiene e estresse e pela presença de doenças. Assim, alguns pesquisadores (Jang *et al.*, 2004; Viola e Vieira, 2007; López *et al.*, 2012) atribuíram a ausência de variação no desempenho em ensaios de avaliação do uso de ácidos orgânicos frente ao uso de antibióticos à boa nutrição ofertada e as condições ambientais ideais que esses animais foram mantidos, com destaque para a boa desinfecção das instalações.

A ausência de influência significativa de ácidos orgânicos (Sakomura *et al.*, 1998; López *et al.*, 2012; Kaya *et al.*, 2013) ou extratos vegetais (Özek *et al.*, 2011) na alimentação sobre o desempenho das aves é comum. No entanto, outras pesquisas (Gama *et al.*, 2000; Bonato *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2010; Youssef *et al.*, 2013) têm demonstrado efeitos benéficos na utilização desses aditivos na ração das aves. A divergência apresentada nos resultados encontrados na literatura se deve às diferentes características dos ácidos orgânicos existentes e a necessidade de se adequar a dose de cada ácido ou mistura frente à diversidade de condições que se apresentam nas criações de aves. Dessa forma, evidencia-se a importância de estudos mais detalhados com a utilização do LCC, como fonte de ácido anacárdico, na alimentação de poedeiras sobre as variáveis de desempenho.

Assim como para as variáveis de desempenho, não foi observado efeito significativo dos tratamentos sobre a percentagem de albúmen, gema e casca, gravidade específica, unidades Haugh e espessura da casca (Tabela 3).

Conforme os resultados, o nível de LCC na ração não promoveu alterações na qualidade dos ovos. A proteína, os aminoácidos e o ácido linoléico são normalmente os fatores nutricionais mais importantes que afetam o peso do ovo e que estão diretamente relacionados com a proporção dos componentes do ovo (Leeson e Summers, 1997). Portanto, como a formulação da ração utilizada no experimento foi realizada para conter níveis iguais de energia metabolizável, proteína bruta, cálcio, fósforo disponível, sódio,

ácido linoléico, metionina e metionina + cistina, pode-se sugerir que a energia e os nutrientes ingeridos pelas aves foram suficientes para que as características e a qualidade dos ovos se mantivessem estáveis. Por outro lado, pode-se supor que o LCC não influenciou na digestibilidade dos nutrientes e no metabolismo das aves.

Tabela 3. Característica e qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com rações com líquido da castanha de caju (LCC).

Tratamentos	Albúmen (%)	Gema (%)	Casca (%)	Gravidade específica (g/cm ³)	Unidades Haugh (UH)	Espessura da casca (mm)
Sem PD	64,53	26,14	9,49	1,083	80,43	0,315
Com PD	64,22	26,33	9,45	1,082	78,72	0,322
0,25% de LCC	64,24	25,95	9,64	1,082	80,23	0,323
0,50% de LCC	64,20	26,34	9,47	1,081	79,79	0,322
0,75% de LCC	63,88	26,36	9,76	1,080	82,20	0,328
1,00% de LCC	64,49	25,94	9,57	1,080	81,13	0,327
Média	64,26	26,23	9,56	1,081	80,42	0,322
Efeitos ANOVA	<i>p-valor</i>					
Tratamento	0,3411	0,4832	0,0648	0,4076	0,1553	0,1919
Regressão	<i>p-valor</i>					
Linear	0,6673	0,9825	0,8484	0,3555	0,2688	0,3386
Quadrática	0,1647	0,0815	0,9796	0,6093	0,7622	1,0000
CV (%)	0,82	1,93	2,00	0,26	2,72	2,81

PD - promotor de desempenho; LCC - líquido da castanha de caju; CV – coeficiente de variação.

Vários estudos têm demonstrado que o uso de ácidos orgânicos, óleos essenciais e extratos de planta na suplementação de ração para poedeiras apresentam efeitos diferentes sobre a qualidade de ovos. Yalcin *et al.* (2000), Soltan (2008) e Özek *et al.* (2011) observaram melhora em alguns parâmetros de qualidade interna e na casca dos ovos com a adição de ácidos orgânicos na ração das poedeiras. No entanto, outros estudos relatam a ausência de benefícios da adição desses ácidos (Gama *et al.*, 2000; Yesilbag e Çolpan, 2006; Kaya *et al.*, 2013) ou extratos vegetais (Botsoglou *et al.*, 2005; Florou-Paneri *et al.*, 2005; Bonato *et al.*, 2009) sobre essas variáveis. Esses resultados contraditórios podem ser tanto devido ao nível da suplementação do ácido orgânico, óleo essencial e extrato da planta quanto à fonte de onde são extraídos.

Os dados de cor da gema, os componentes da cor da gema e os valores de TBARS na gema dos ovos das aves que foram submetidas aos diferentes níveis de LCC são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Coloração, componentes da cor e valores de TBARS na gema dos ovos de poedeiras alimentadas com líquido da castanha de caju.

Tratamentos	Coloração	Parâmetros da cor			TBARS (mg de MDA/kg de gema)
		L*	a*	b*	
Sem PD	7,79a	76,95	3,10abc	68,20	1,10a
Com PD	7,12c	77,72	2,18c	67,78	1,12a
0,25% de LCC	7,51b	75,80	2,40bc	66,35	0,98ab
0,50% de LCC	7,59b	75,85	4,30a	67,00	0,93ab
0,75% de LCC	7,78a	76,76	3,60ab	69,09	0,84b
1,00% de LCC	7,43b	74,88	3,55ab	66,11	1,12a
Média	7,54	76,23	3,24	67,35	1,01
Efeitos ANOVA		<i>p-valor</i>			
Tratamento	<0,0001	0,2761	0,0010	0,0963	0,0037
Regressão		<i>p-valor</i>			
Linear	0,8836	0,2517	0,1062	0,6869	0,6988
Quadrática	0,0046	0,9055	0,3674	0,9069	0,0016
CV (%)	1,68	2,17	19,68	2,34	10,06

Médias seguidas por letras iguais não diferem, pelo teste SNK, a 5% de probabilidade.

PD - promotor de desempenho; LCC - líquido da castanha de caju; CV – coeficiente de variação.

Pela análise de regressão pode-se constatar efeito quadrático significativo dos níveis de inclusão de LCC sobre a coloração da gema medida pelo leque colorimétrico da DSM, cuja equação foi $Y = 7,056 + 2,129X - 1,72X^2$ ($R^2 = 0,69$). De acordo com a equação, a cor da gema aumentou inicialmente atingindo o nível máximo de 0,62% de LCC na ração, diminuindo em seguida. No teste de médias houve efeito significativo dos tratamentos sobre a coloração da gema, onde a cor da gema foi superior para os tratamentos sem o promotor de desempenho e com 0,75% de LCC na ração e inferior no tratamento com promotor de desempenho. Por outro lado, o componente de cor a* (intensidade de vermelho) foi superior no nível de 0,50% de LCC, enquanto o tratamento com o promotor de desempenho obteve o menor valor.

A cor da gema é uma característica sensorial de relevância econômica por ser associada à sua qualidade nutricional, onde, normalmente, os consumidores associam à cor da gema a sua quantidade de vitaminas. O milho é o ingrediente com maior participação em rações para aves e principal fonte de carotenóides, pigmentos que conferem a cor amarela à gema dos ovos (Moura *et al.*, 2011). Entretanto, os carotenóides apresentam propriedades antioxidantes, pois são compostos por uma cadeia polieno formado por ligações duplas conjugadas (Cerqueira *et al.*, 2007). O sistema de duplas ligações conjugadas favorece para que ocorra a captação do oxigênio *singlet* e de radicais livres, interrompendo as reações em cadeia onde eles estão

envolvidos (Sikora *et al.*, 2008). Além disso, a presença dessas ligações facilita a oxidação dos carotenóides, o que provoca uma perda da coloração nos alimentos (Silva *et al.*, 2010). Dessa forma, os resultados deste estudo sugerem que o LCC adicionado na ração das poedeiras pode ter auxiliado na redução da perda da coloração da gema em virtude da oxidação e/ou que o LCC pode apresentar pigmentos capazes de afetar a intensidade do vermelho das gemas.

Na literatura tem-se apresentado algumas pesquisas com a adição de ácidos orgânicos na ração de poedeiras que não apresentaram efeitos na coloração da gema dos ovos (Yesilbag e Çolpan, 2006; Park *et al.* 2009). No entanto, aditivos naturais podem alterar a coloração da gema, visto que estes podem conter pigmentos capazes de se depositarem na gema.

Radwand *et al.* (2008) utilizaram diferentes antioxidantes naturais presente no tomilho, alecrim, orégano e açafraão-da-terra na ração de poedeiras e observaram melhora na cor da gema com adição de 1% de açafraão-da-terra. Fredriksson *et al.* (2006) utilizaram algas marinhas na alimentação de poedeiras e observaram aumento no componente a* (intensidade do vermelho) com o nível de inclusão. Enquanto, Lim *et al.* (2005) forneceram ração com alho em pó e cobre e não observaram efeito na cor da gema. Özek *et al.* (2011) não obtiveram diferenças significativas na cor da gema de aves alimentadas com ração contendo uma mistura de óleos essenciais.

A análise das substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é um dos métodos mais utilizados para determinar a rancidez oxidativa em alimentos (Esterbauer, 1993). Ela mede a formação de produtos secundários da oxidação, principalmente malonaldeído, que pode contribuir para formação de odor e sabor de gordura oxidada (Kanatt *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2011). Assim, a atividade antioxidante dos ácidos anacárdicos à resposta da estabilidade dos lipídeos da gema apresentou diferenças significativas na gema do ovo *in natura* (Tabela 4).

Pela análise de regressão, foi observado efeito quadrático ($Y = 1,25 - 1,45X + 1,26X^2$, $R^2 = 0,80$) dos níveis de LCC sobre os valores de TBARS da gema do ovo. Segundo a equação, os valores do TBARS diminuíram atingindo o mínimo por volta de 0,58% de LCC, aumentando em seguida. Esse aumento da oxidação lipídica das gemas pode sugerir um efeito pró-oxidante do LCC quando concentrações maiores são utilizadas.

Na comparação entre as médias, o nível de 0,75% de LCC apresentou menor valor de TBARS, enquanto os tratamentos com e sem promotor de desempenho e com o nível de 1,00% de LCC apresentaram maiores valores de TBARS (Tabela 4).

A concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico pode ser decorrente da ingestão dessas substâncias na ração e da posterior transferência para a gema ou, ainda, resultante da produção endógena dessas substâncias pelas poedeiras (Radwan *et al.*, 2008). Dessa forma, o nível de TBARS nos ovos, está diretamente relacionado à composição lipídica e à transferência do antioxidante para os ovos (Shahryar *et al.*, 2010).

Portanto, esses resultados sugerem uma ação protetora dos antioxidantes presentes no LCC sobre os ovos *in natura*, demonstrando que a incorporação de antioxidantes naturais nas rações das poedeiras pode propiciar melhora na estabilidade lipídica da gema dos ovos. Resultados semelhantes foram obtidos por Botsoglou *et al.* (2005) que encontraram menor valor de malonaldeído em ovos de galinhas alimentadas com rações contendo α -tocoferol em relação ao controle. Radwan *et al.* (2008) obtiveram redução na formação de malonaldeído na gema de ovo quando adicionaram 1,0% de orégano ou 1,0% de alecrim ou 0,5% de açafrão-da-terra durante a fase de postura. Zhao *et al.* (2011) observaram melhora na estabilidade oxidativa da gema do ovo quando adicionaram nas rações das poedeiras o gengibre em pó.

Apesar dos resultados indicarem que a utilização do LCC não foi capaz de melhorar o desempenho e algumas das características de qualidade dos ovos das poedeiras devido a ausência de desafio de sanitário, foi possível observar os efeitos positivos do LCC na coloração da gema e estabilidade oxidativa do ovo. No entanto, novos estudos devem ser realizados para avaliar o LCC como um aditivo natural na alimentação das aves, visto que, segundo Freitas *et al* (2014), a ação do aditivo em beneficiar o animal depende do nível de desafio a que este animal foi submetido no campo.

Conclusões

A adição de até 1,00% do líquido da castanha de caju, como fonte de ácido anacárdico na ração das poedeiras não influencia no desempenho e na qualidade dos ovos. Constatou-se que o nível de 0,75% de LCC é efetivo em reduzir a oxidação lipídica das gemas *in natura* e melhorar a coloração da gema.

Referências Bibliográficas

- BONATO, M. A.; SAKOMURA, N. K.; SAKOMURA, N.; PIVA, G.; PIVA, G.; BARBOSA, N.; FERNANDES, J. Efeito de acidificantes e extratos vegetais sobre o desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais. **Ars Veterinaria**, v. 24, n. 3, p. 186-192, 2009.
- BOTSOGLOU, N.; FLOROU-PANERI, P.; BOTSOGLOU, E.; DOTAS, V.; GIANNENAS, I.; KOIDIS, A.; MITRAKOS, P. The effect of feeding rosemary, oregano, saffron and α -tocopheryl acetate on hen performance and oxidative stability of eggs. **South African Journal of Animal Science**, v.35, p.143-151, 2005
- CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, 30(2), 441, 2007.
- CHERIAN, G.; HOLSONBAKE, T. B.; GOEGER, M. P.; BILDFELL, R. Dietary conjugated linoleic acid alters yolk and tissue fatty acid composition and hepatic histopathology of laying hens. **Lipids** 37:751-757, 2002.
- CROMWELL, G. L. Antimicrobial agents. In: MILLER, E. R., ULLREY, D. E., LEWIS, A. J. **Swine nutrition**. Boston Butterworth - Heinemann, p. 297-314, 1991.
- ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipidoxidation products. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n.5, p. 779-785, 1993.
- FLOROU-PANERI P., NIKOLAKAKIS I., GIANNENAS I., KOIDIS A., BOTSOGLOU E., DOTAS V., MITSOPOULOS I. Hen performance and egg quality as affected by dietary oregano essential oil and -tocopheryl acetate supplementation. **Int. J. Poultry Sci.** 4, 449-454, 2005.
- FREDRIKSSON, S.; ELWINGER, K.; PICKOVA, J. Fatty acid and carotenoid composition of egg yolk as an effect of microalgae addition to feed formula for laying hens. **Food chemistry**, 99(3), 530-537, 2006.
- FREITAS, E. R.; RABELLO, C. B.; WATANABE, P. H. Probióticos e prebióticos na nutrição de monogástricos. In: Nilva Kazue Sakomura; José Huberto Vilar da Silva; Fernando Guilherme Perazzo Costa; João Batista K. Fernandes; Luciano Hauschild. (Org.). **Nutrição de Não Ruminantes**. 1ed.Jaboticabal: FUNEP, v. 1, p. 485-510, 2014.
- FREITAS, E.R.; SAKOMURA, N.K.; GONZALES, M.M.; BARBOSA, N.A.A. Comparação de métodos de determinação da gravidade específica de ovos de poedeiras comerciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.509-512, 2004.
- GAMA, N. M. S. Q.; OLIVEIRA, M. D.; SANTIN, E.; BERCHIERI JR, A. Ácidos orgânicos em rações de poedeiras comerciais. **Ciência Rural**, v. 30, n. 3, p. 499-502, 2000.

HIMEJIMA, M.; KUBO I. Antibacterial Agents from the Cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) Nut Shell Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, p.418-421, 1991.

JANG, I.S.; KO, Y.H.; YANG, H.Y.; HA, J.S.; KIM, J.Y.; KIM, J.Y.; KANG, S.Y.; YOO, D.H.; NAM, D.S.; KIM, D.H.; LEE, C.Y.; 2004. Influence of essential oil components on growth performance and the functional activity of the pancreas and small intestine in broiler chickens. **Asian - Australasian Journal of Animal Sciences**, 17 (3), 394–400, 2004.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. (2010). Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. **International journal of food science & technology**, 45(2), 216-222.

KAYA, H.; KAYA, A.; GUL, M.; CELEBI, S. The Effect of Zeolite and Organic Acid Mixture Supplementation in the Layer Diet on Performance, Egg Quality Traits and Some Blood Parameters. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.12, p.782-787, 2013.

LEE, M. A.; CHOI, J. H.; CHOI, Y. S.; KIM, H. Y.; KIM, H. W.; HWANG, K. E.;.... KIM, C. J. Effects of ethanolic extracts on oxidative stability of refrigerated cooked pork. **Meat science**, 89(4), 405-411, 2011.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Comercial poultry nutrition**.2.ed. Ontario: University Books, p. 350, 1997.

LIM, K. S.; YOU, S. J.; AN, B. K.; KANG, C. W. Effects of dietary garlic powder and copper on cholesterol content and quality characteristics of chicken eggs. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, 19(4), 582, 2005.

LÓPEZ, C.A.A.; LIMA, K.R.S.; MANNO, M.C.; TAVARES, F.B.; FERNANDES NETO, D.L.; JESUS, M.L.C.; VIANA, M.A.O. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 64(4), 1027-1035, 2012.

LÜCKSTÄDT, C ed. **Acidifiers in animal nutrition: a guide for feed preservation and acidification to promote animal performance**. Nottingham University Press, 2007.

MANUAL de manejo Hisex White. Cascavel: Interaves, 2008. 55p.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, p. 732-741, 2009.

MOURA, A. M. A. D.; TAKATA, F. N.; NASCIMENTO, A. F. D. S.; MELO, T. V.; CECON, P. R. Pigmentantes naturais em rações à base de sorgo para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40(11), 2443-2449, 2011.

MUNIZ, C.R.; FREIRE, F.C.O.; LEMOS, E.H.; PINTO, G.A.S.; FIGUEIREDO, E.A.T.; FIGUEIREDO, R.W. Effect of Processing Conditions on the Microbiological Quality of Cashew Nuts. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 9, n. 1, p. 33-38, 2006.

ODUNSI, A.A.; OYEWOLE, S.O. Response of broiler chicks to diets containing varying levels of cashew nut oil and palm oil. **Ghana Journal of Agricultural Science** 29, p. 59-63, 1996.

ÖZEK, K.; WELLMANN, K.T.; ERTEKIN, B.; TARIM, B. Effects of dietary herbal essential oil mixture and organic acid preparation on laying traits, gastrointestinal tract characteristics, blood parameters and immune response of laying in a hot summer season. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.20, p.575-586, 2011.

PARK, K.W.; RHEE, A.R.; Um, J.S.; Paik, I.K. Effect of dietary available phosphorus and organic acids on the performance and egg quality of laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**, 18, 598–604, 2009.

RADWAN, L.N.; HASSAN, R.A.; QOTA, E.M.; FAYEK H.M. Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and reproductive performance of laying hens. **International Journal of Poultry Science**, v.7, p.134-150, 2008.

RIBEIRO, C. L. G.; RUTZ, F.; DALLMANN, P. R.; ZAUK, N. F.; SILVEIRA, M. H. D.; GONCALVES, R. D. A. S.; ROSSI, P. Efeito da utilização de mananoligossacarídeos (mos) e de ácidos orgânicos associados à mos, com e sem antibióticos, na dieta de poedeiras produtoras de ovos avermelhados. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, 2010.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: UFV, p. 252, 2011.

SAKOMURA, N. K.; SILVA, R. D.; OKADA, A. K. Performance of laying hens fed rations supplemented with fumaric acid. **Ciência Rural**, v. 28, n. 1, p. 131-136, 1998.

SHAHRYAR, H.A.; SALAMATDOUST, R.; CHEKANI-AZAR, S.; AHADI, F.; VAHDATPOOR, T. Lipid oxidation in fresh and stored eggs enriched with dietary omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids and vitamin E and A dosages. **African Journal of Biotechnology**, v.9, p.1827-1832, 2010.

SIKORA, E.; CIESLIK, E.; LESZCZYNSKA, T.; FILIPIAK-FLORKIWUACZ, A.; PISULEWSKI, P. M. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry**, London, v. 107, p. 50-55, 2008.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SOLTAN, M. Effect of dietary organic acid supplementation on egg production, egg quality and some blood serum parameters in laying hens. **International Journal of Poultry Sciences**, Faisalabad, v.7, n.6, p. 613-621, 2008.

TOYOMIZU, M.; OKAMOTO, K.; ISHIBASHI, T.; NAKATSU, T.; AKIBA, Y. Reducing effect of dietary anacardic acid on body fat pads in rats. **Animal Science Journal**, v. 74, n. 6, p. 499-504, 2003.

TOYOMIZU, M.; OKAMOTO, M.; ISHIBASHI, T.; CHEN, Z.; NAKATSU, T. Uncoupling effect of anacardic acids from cashew nut shell oil on oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria **Life Sciences**, v. 66, p. 229–234, 2000

TREVISAN, M. T. S.; PFUNDSTEIN, B.; HAUBNER, R.; WÜRTELE, G.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H.; OWEN, R. W. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 188–197, 2006.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 1097-1104, 2007.

YALCIN, S., YALCIN, S., SEHU A., SARIFAKIOGULLARI, K. Yumurta tavugu rasyonlarında laktik asit kullaniminin bazı yumurta kalite özelliklerine etkisi. NATIONAL ANIMAL NUTRITION CONGRESS, Isparta, Turkey. 4-6 September 2000. p. 600-604.

YESILBAG, D.; ÇOLPAN I. Effects of organic acid supplemented diets on growth performance, egg production and quality and on serum parameters in laying hens. **Revue de Medicine Veterinaire**, 157, 280–284, 2006.

YOUSSEF, A. W.; HASSAN, H. M. A.; ALI, H. M.; MOHAMED, M. A. **Effect of probiotics, prebiotics and organic acids on layer performance and egg quality**. Asian Journal of Poultry Science, v. 7, p.65-74, 2013.

ZHAO, X.; YANG, Z.B.; YANG, W.R.; WANG, Y.; JIANG, S.Z.; ZHANG, G.G. Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) on laying performance and antioxidant status of laying hens and on dietary oxidation stability. **Poultry Science**, v.90, p.1720-1727, 2011.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Nas condições experimentais do presente estudo mostrou que é possível substituir os antibióticos promotores de desempenho em rações para poedeiras por aditivos alternativos. O líquido da castanha de caju (LCC), como fonte de ácido anacárdico, destaca-se por ser um ácido orgânico, apresentar capacidade antioxidante e não ser tóxico ao organismo das poedeiras. No entanto, na ausência de desafio de campo, o LCC não melhora o desempenho e algumas das características de qualidade dos ovos. Portanto, é necessária a realização de novos estudos com esse aditivo na alimentação de poedeiras, baseado no princípio de que a ação do aditivo em beneficiar o animal depende do nível de desafio a que este animal foi submetido no campo.