



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

GERMANA COSTA AGUIAR WATANABE

**ANACARDATO DE CÁLCIO E SUAS ASSOCIAÇÕES COM ÁCIDO CÍTRICO NA
ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS**

FORTALEZA

2021

GERMANA COSTA AGUIAR WATANABE

ANACARDATO DE CÁLCIO E SUAS ASSOCIAÇÕES COM ÁCIDO CÍTRICO NA
ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- W294a Watanabe, Germana Costa Aguiar.
Anacardato de cálcio e suas associações com o ácido cítrico na alimentação de poedeiras comerciais / Germana Costa Aguiar Watanabe. – 2021.
101 f.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.
1. Castanha de caju. 2. Anacardium Occidentale L.. 3. Fitogênico. 4. Antioxidante natural. 5. Ácido orgânico. I. Título.

CDD 636.08

GERMANA COSTA AGUIAR WATANABE

ANACARDATO DE CÁLCIO E SUAS ASSOCIAÇÕES COM ÁCIDO CÍTRICO NA
ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas

Apresentado em:10/09/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

Profa. Dra. Irani Ribeiro Vieira Lopes
Universidade Federal do Cariri (UFCA)

Profa. Dra. Silvana Cavalcante Bastos Leite
Universidade do Vale do Acaraú (UVA)

Prof. Dr. Walbens Siqueira Benevides
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força, fé e coragem para chegar onde cheguei, e sempre me fazer acreditar que um sonho pode se tornar realidade.

A minha mãe Maria Marlene Costa Aguiar, pelo amor e por estar sempre torcendo, rezando e me apoiando em toda a minha jornada.

Ao meu marido Pedro Henrique pela paciência, palavras de incentivo e carinho, sempre me auxiliando nos momentos mais importantes.

Ao meu filho José Luiz, minha luz e razão da minha vida.

Ao Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas pela excelente orientação e exemplo de competência e profissionalismo, principalmente pela sua paciência, e todo apoio indispensáveis no desenvolvimento deste trabalho

Aos membros da banca, Germano Augusto Jerônimo do Nascimento, Irani Ribeiro Vieira Lopes, Silvana Cavalcante Bastos Leite, Walbens Siqueira Benevides pelas sugestões.

Aos colegas de pós-graduação que auxiliaram nas atividades do meu experimento, Marcelle, Carla, Edibergue, Monik, Tiago, Otoniel, dentre outros, pela colaboração, por todo conhecimento compartilhado, pelos momentos de descontração e pela amizade, que contribuíram para tornar a rotina mais agradável.

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao Departamento de Zootecnia e todos os seus professores pela contribuição na minha formação profissional.

À FUNCAP, pelo apoio financeiro com a concessão da bolsa de auxílio.

Aos funcionários do Setor de Avicultura da UFC, Diego, Isaías, Maninho e ao Márcio, da fábrica de ração, pela colaboração nas atividades solicitadas.

Ao Laboratório de Produtos Naturais (LPN) do Departamento de Química da UFC, em especial a professora Dra. Teresa Trevisan, por ceder espaço para realização das análises químicas.

Ao Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular de Proteínas Vegetais em especial ao professor Enéas Gomes Filho por ceder espaço para realização das análises químicas.

Ao meu colega Daniel Farias de Oliveira, do Laboratório de Fisiologia Vegetal pelo auxílio nas análises e paciência nos ensinamentos passados.

A todos que contribuíram e ainda contribuem para minha felicidade e realização profissional.

RESUMO

Objetivou-se avaliar, nesta tese, o efeito da inclusão na ração das poedeiras do anacardato de cálcio (ANC), associado ou não ao ácido cítrico (AC), sobre o desempenho, qualidade interna e externa dos ovos frescos, perfil bioquímico sérico, peroxidação lipídica do soro e gemas bem como atividade enzimática, peroxidação lipídica do fígado e tecidos do sistema reprodutor (ovário, magno e útero). Para isso, 432 poedeiras com peso médio de $(1,440 \pm 100 \text{ g})$, da linhagem comercial *Hy-Line W-36*, no período de 63 a 75 semanas de idade, foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado de nove tratamentos e seis repetições. Os tratamentos consistiram em: T1 – ração sem adição de antioxidantes; T2 – ração com adição de 0,25% de ANC; T3 – ração com 0,25% de ANC associado a 0,25% de AC; T4 – ração com 0,50% de ANC; T5 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,25% de AC; T6 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,50% de AC; T7 – ração com 0,75% de ANC; T8 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,25% de AC; T9 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,50% de AC. Não houve efeito significativo dos tratamentos sobre o desempenho, porcentagem de gema, albúmen e casca, densidade específica, unidades Haugh e espessura da casca dos ovos, pH e pesos relativos dos órgãos e segmentos do trato gastrointestinal, desenvolvimento do sistema reprodutor e parâmetros bioquímicos do sangue. No entanto, tratamentos com 0,75% ANC e suas associações com o AC (0,25 e 0,50) apresentaram aumento da pigmentação das gemas. Para os valores de oxidação lipídica das gemas, as aves que receberam doses isoladas de ANC (0,50% e 0,75%) apresentam menor oxidação; já as aves que receberam ração sem adição de antioxidantes 0,25% de ANC; 0,50% de ANC + 0,25% de AC e 0,75% de ANC + 0,25% de AC apresentaram efeito pró-oxidante. Observou-se ainda menores concentrações de malonaldeído (MDA) no soro sanguíneo das aves que consumiram ração com dose isolada de ANC (0,75 e 0,50%) e associados a 0,50% de AC. Para atividade enzimática nos órgãos, observou-se efeito significativo dos tratamentos nas variáveis CAT do fígado e magno. No caso em que as aves que receberam doses isoladas de ANC (0,50 e 0,75) e as associações com o AC nas doses de (0,25 e 0,50), elas apresentam menor atividade enzimática no fígado e maior atividade enzimática no magno. Para SOD, observou-se efeito significativo dos tratamentos nos tecidos do ovário, magno e útero; a atividade enzimática, no ovário, apresentou maiores valores para aves alimentadas com ração sem adição de antioxidantes e 0,25% de ANC e menor oxidação para as aves que consumiram ração contendo 0,50% de ANC associado AC (0,25 e 0,50%) e 0,75% de ANC associados a AC (0,25 e 0,50%). No magno e útero, as aves que consumiram ração sem adição de antioxidantes apresentaram maiores valores da SOD. Desta

forma, doses isoladas de ANC ou associadas com o AC podem ser adicionadas na ração de poedeiras leves até o nível de 0,75%, sem que ocorram alterações no desempenho, qualidade dos ovos e bioquímico sérico no período de 63 a 75 semanas de idade. Contudo, a atividade antioxidante nos tecidos do fígado, sistema reprodutivo e a qualidade dos ovos pode ser melhorada com a redução lipídica das gemas quando se acrescenta nas rações doses isoladas de ANC (0,50 e 0,75). Se o objetivo for a pigmentação das gemas recomenda-se a utilização de 0,75% de ANC.

Palavras-chave: castanha de caju; *Anacardium Occidentale*; fitogênico; ácido orgânico; antioxidante natural; peroxidação lipídica.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of the inclusion of calcium anacardate (ANC) associated or not with citric acid (CA) in the diet of laying hens on performance, internal and external quality of fresh eggs, serum biochemical profile, serum lipid peroxidation and yolks as well as enzymatic activity and lipid peroxidation of the liver and tissues of the reproductive system (ovary, magnum and uterus). For this, two experiments were carried out using 432 laying hens with an average weight of $(1450 \pm 100\text{g})$ of the commercial strain Hy-Line W-36 in the period from 63 to 75 weeks of age. Distributed in a completely randomized design with nine treatments and six replications. The treatments consisted of: T1 – ration without addition of antioxidant; T2 – ration with the addition of 0.25% of ANC; T3 – diet with 0.25% ANC associated with 0.25% AC; T4 – ration with 0.50% of ANC; T5 – diet with 0.50% ANC associated with 0.25% AC; T6 – diet with 0.50% ANC associated with 0.50% AC; T7 – ration with 0.75% of ANC; T8 – diet with 0.75% ANC associated with 0.25% AC; T9 – diet with 0.75% ANC associated with 0.50% AC. There was no significant effect of treatments on laying hens performance, pH, relative weight of the gastrointestinal tract; gizzard; liver and reproductive system, percentage of yolk, albumen and shell, specific gravity, Haugh units, shell thickness, Cr, ALT, AST, COL.Total and TAG. However, treatments with 0.75% ANC and its association with AC (0.25 and 0.50) showed an increase in bud pigmentation. For the values of lipid oxidation of the yolks, the birds that received isolated doses of ANC (0.50% and 0.75%) presented lower oxidation, whereas the birds that received feed without the addition of antioxidants; 0.25% ANC; 0.50% of ANC + 0.25% of AC and 0.75% of ANC + 0.25% of AC showed a pro-oxidant effect. Even lower concentrations of Malonaldehyde (MDA) were observed in the blood serum of birds that consumed rations with an isolated dose of ANC (0.75 and 0.50%) and associated with 0.50% of AC. For enzymatic activity in the organs, there was a significant effect of the treatments on the liver and magnum CAT variables. Where birds that received isolated doses of ACN (0.50 and 0.75) and associations with AC at doses of (0.25 and 0.50) have lower enzymatic activity in the liver and higher enzymatic activity in the magnum. For SOD, there was a significant effect of treatments on the ovary, magnum and uterus tissues, the enzymatic activity in the ovary showed higher values for birds fed with ration without addition of antioxidant and 0.25% of ANC and lower oxidation for birds who consumed rations containing 0.50% of ANC associated with AC (0.25 and 0.50%) and 0.75% of ANC associated with AC (0.25 and 0.50%). In the magnum and uterus, birds that consumed feed without the addition of antioxidants had higher SOD values.

In this way, the use of isolated doses of ANC or associated with AC can be added to the diet of laying hens up to the level of 0.75%, without changes in performance, egg quality and serum biochemistry in the period from 63 to 75 weeks old. However, the antioxidant activity in the tissues of the liver and reproductive system and the quality of the eggs can be improved with the lipid reduction of the yolks when isolated doses of ANC (0.50 and 0.75) are added to the diets or if the objective is to pigmentation of the yolks, the use of 0.75% ANC is recommended.

Keywords: cashew nuts; *Anacardium Occidentale L*; phytogetic; organic acid; natural antioxidant; lipid peroxidation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-Princípio ativo e propriedades de aditivos fitogênicos utilizados na alimentação de aves.....	30
Tabela 2	-Composição percentual e nutricional calculada da ração controle utilizada para poedeiras leves.....	48
Tabela 3	-Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo anacardato de cálcio e sua associação com o ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.....	51
Tabela 4	-Peso relativo dos órgãos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.....	53
Tabela 5	-pH do conteúdo dos órgãos do trato gastrointestinal de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.....	54
Tabela3	-Característica e qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.....	55
Tabela 7	-Composição percentual e nutricional calculada da ração controle utilizada para poedeiras leves.....	67
Tabela 8	-Parâmetros bioquímicas e peroxidação lipídica no sangue de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.....	70
Tabela 9	-Atividade da Catalase e Superóxido dismutase no fígado de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.....	73
Tabela 10	-Atividade da Catalase e Superóxido dismutase no sistema reprodutivo de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.....	74

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1	Estresse oxidativo e sistema de defesa antioxidante.....	14
2.1.1	<i>Espécies reativas de nitrogênio (ERN).....</i>	<i>15</i>
2.1.2	<i>Espécies reativas de oxigênio (ERO).....</i>	<i>15</i>
2.2	Sistema de defesa antioxidante.....	17
2.2.1	<i>Sistema enzimático.....</i>	<i>17</i>
2.2.2	<i>Sistema não enzimático.....</i>	<i>19</i>
2.3	Antioxidantes.....	21
2.4	Ácidos orgânicos e aditivos fitogênicos na alimentação de aves.....	23
2.4.1	<i>Ácidos orgânicos.....</i>	<i>23</i>
2.4.1.1	<i>Ácido cítrico.....</i>	<i>25</i>
2.4.2	<i>Aditivos Fitogênicos.....</i>	<i>27</i>
2.4.2.1	<i>Extratos fitogênicos e sua aplicabilidade na avicultura.....</i>	<i>32</i>
2.4.2.2	<i>Ação antimicrobiana.....</i>	<i>32</i>
2.4.2.3	<i>Ação antioxidante.....</i>	<i>36</i>
2.4.2.4	<i>Ácido Anacárdico.....</i>	<i>39</i>
3	ANACARDATO DE CÁLCIO E SUAS ASSOCIAÇÕES COM ÁCIDO CÍTRICO NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS: DESEMPENHO E QUALIDADE DOS OVOS.....	43
3.1	Introdução.....	45
3.2	Material e métodos.....	46
3.2.1	<i>Obtenção do líquido da casca da castanha de caju e preparação do anacardato de cálcio.....</i>	<i>46</i>
3.2.2	<i>Quantificação do ácido anacárdico das amostras.....</i>	<i>47</i>
3.2.3	<i>Experimento com aves.....</i>	<i>47</i>
3.2.4	<i>Delineamento, tratamentos e rações experimentais.....</i>	<i>48</i>
3.2.5	<i>Avaliações do desempenho das aves.....</i>	<i>49</i>
3.2.6	<i>Avaliação da qualidade externa e interna dos ovos frescos.....</i>	<i>49</i>
3.2.7	<i>Avaliação do pH e desenvolvimento do trato digestório.....</i>	<i>50</i>
3.2.8	<i>Análises estatísticas dos dados.....</i>	<i>51</i>

3.3	Resultados e discussão.....	51
3.3.1	<i>Desempenho das poedeiras.....</i>	51
3.3.2	<i>Desenvolvimento de órgãos e pH do trato.....</i>	53
3.3.3	<i>Qualidade interna e externa dos ovos.....</i>	55
3.4	Conclusão.....	58
4	PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE ÓRGÃOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM ANACARDATO DE CÁLCIO E SUA ASSOCIAÇÃO COM O ÁCIDO CÍTRICO.....	59
4.1	Introdução.....	63
4.2	Material e métodos.....	64
4.2.1	<i>Obtenção do líquido da casca da castanha de caju e preparação do anacardato de cálcio.....</i>	64
4.2.2	<i>Quantificação do ácido anacárdico das amostras.....</i>	65
4.2.3	<i>Experimento com aves.....</i>	65
4.2.4	<i>Delineamento, tratamentos e rações experimentais.....</i>	66
4.2.5	<i>Avaliação dos efeitos fisiológicos.....</i>	67
4.2.6	<i>Perfil bioquímicos sérico.....</i>	67
4.2.7	<i>Peroxidação lipídica no sangue.....</i>	68
4.2.8	<i>Atividade da enzima superóxido dismutase e catalase nos órgãos.....</i>	68
4.2.9	<i>Preparação dos extratos.....</i>	68
4.2.10	<i>Dismutase do Superóxido (SOD).....</i>	68
4.2.11	<i>Catalase (CAT).....</i>	69
4.2.12	<i>Proteínas solúveis.....</i>	69
4.2.13	<i>Análise estatística dos dados.....</i>	70
4.3	Resultados e discussão.....	70
4.3.1	<i>Bioquímica e peroxidação lipídica do sangue.....</i>	70
4.3.2	<i>Atividade das enzimas Catalase e Superóxido dismutase.....</i>	72
4.4	Conclusão.....	75
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
	REFERÊNCIAS.....	77

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A eficiência produtiva é fundamental para alcançar resultados econômicos expressivos. Logo, qualquer fator que favoreça o desempenho das aves merece ser analisado. Além da utilização das linhagens melhoradas, em associação com o manejo adequado, é necessário que as aves recebam aporte nutricional de acordo com a fase e estejam em adequado estado sanitário.

Porém, em poedeiras, a partir do pico de produção, as perdas de ovos aumentam devido a uma série de mudanças fisiológicas e hormonais. Com o decorrer da idade, o peso do ovo aumenta sem, no entanto, aumentar a deposição de cálcio, o que acarreta queda no desempenho e qualidade dos ovos (ALBINO et al., 2014). Além desse aumento do tamanho do ovo, à medida que avança a idade da ave, as células da mucosa intestinal enfraquecem e há uma diminuição na altura das vilosidades do duodeno, o que prejudica a absorção dos nutrientes necessários para a formação da casca de ovo (SENGOR et al., 2007). Isso exige uma maior atenção ao balanceamento da ração de acordo com as necessidades nas diferentes fases de postura.

Em contrapartida, atualmente existem formas de melhorar a biodisponibilidade e absorção dos nutrientes presentes nas matérias-primas utilizadas no preparo das rações (HONG et al., 2012). O uso de ácidos orgânicos e aditivos fitogênicos podem reduzir problemas econômicos, sanitários e fornecer produtos seguros e de qualidade ao consumidor, pois, quando adicionados à dietas das aves, tem como função inibir a microflora intestinal patogênica e, conseqüentemente, seus metabólitos tóxicos, estimular a proliferação de células epiteliais e o tamanho de vilosidades, aumentando a superfície de absorção e atuando para melhorar o desempenho na dieta de ave (BRUGALLI, 2003; FUKAYAMA et al., 2005; SUIRYANRAYNA, RAMANA, 2015).

O ácido anacárdico é um composto fenólico presente em diferentes partes do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) e é o principal constituinte naturalmente encontrado no líquido da casca da castanha de caju (LCC). Ele apresenta atividade antitumoral, antibacteriana, antifúngica, antioxidante e também a habilidade de inibir as enzimas tirosinase, prostaglandina síntese e lipoxigenase (TOYOMIZU et al., 2003).

Pesquisas recentes com ácido anacárdico apontam esse elemento como promotor do crescimento das aves quando administrado na alimentação, na forma de anacardato de cálcio. Isso tem demonstrado alguns efeitos nas diferentes fases de produção, mas sem impacto quando se considera o ciclo completo (SANTOS, 2014; CRUZ, 2015).

Cruz et al. (2019) relacionaram a ausência de efeito significativo da adição do anacardato de cálcio sobre os parâmetros ósseos de frangos de corte ao comprometimento da sua hidrólise e, conseqüentemente, da liberação do ácido anacárdico em pH normal do trato digestório das aves.

Atualmente existe a possibilidade de uma ação combinada de aditivos à dieta como uma alternativa interessante para potencializar o desempenho dos animais, uma vez que o uso de um ácido orgânico na ração facilitaria a dissociação do ácido anacárdico durante o processo digestivo, permitindo que este, em sua forma livre, atue como promotor de crescimento sobre a microbiota, além de viabilizar sua absorção pelo organismo, trazendo benefícios por meio da sua ação antioxidante.

Dentre os ácidos orgânicos, o ácido cítrico destaca-se por sua ação antioxidante e seus efeitos sobre o controle e redução do pH intestinal, prevenindo o desenvolvimento e o crescimento de microrganismos patógenos (OSTERMANN, SANFEKUCE & VIEIRA, 2005; DEEPA et al., 2011). Assim, ao utilizar a associação ácido cítrico e anacardato de cálcio na dieta de leitões desmamados, Ferreira et al. (2020) constataram efeitos positivos no desempenho e morfologia intestinal dos leitões.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a ação do anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico nas rações de poedeiras comerciais leves sobre os parâmetros de desempenho, qualidade interna e externa dos ovos, perfil bioquímico sérico e a atividade enzimática relacionados ao estresse oxidativo em alguns órgãos

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Na produção avícola comercial moderna, uma variedade de estressores ambientais, tecnológicos, nutricionais e biológicos podem intensificar a formação biológica de radicais livres que, por sua vez, causam estresse oxidativo. Isso ocasiona um comprometimento da saúde animal, bem como o desempenho produtivo, reprodutivo e a qualidade dos produtos de origem animal (SURAI, 2016).

Diante desse cenário, diversos estudos evidenciaram que o maior estresse para as poedeiras comerciais desencadeia-se quando a ave entra no pico de produção. Nessa fase da vida da ave, quando os principais compostos da gema do ovo são sintetizados no fígado, este, que trabalha em capacidade máxima, apresenta queda na produção de ovos quando a ave se depara com qualquer nível de estresse (SURAI, 2002; SURAI & FISININ, 2012b; 2015). O sistema antioxidante natural da ave torna-se, então, mais frágil, levando ao aumento de radicais livres no corpo (BENZER E YILMAZ, 2009), que, em níveis elevados, causam danos aos tecidos e prejudicam o desempenho (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1999).

Devemos citar que os estresses anteriormente citados afetam dramaticamente a resposta do sistema imunológico. Em geral, a relação entre estresse e imunidade é bastante complexa (DHABHAR, 2014); porém é notório que a saúde intestinal das aves é afetada e o estresse oxidativo pode causar alterações no equilíbrio do trato gastrointestinal, impactando a absorção de nutrientes (SURAI & FISININ, 2015) e a produção de ovos.

Nesse sentido, é necessário o desenvolvimento de uma estratégia eficaz para lidar com os estresses nutricionais e internos na produção avícola. Atualmente, os produtores têm sido motivados a fazer uso de antioxidantes naturais já que existem diversos estudos demonstrando que compostos fitogênicos são benéficos para a saúde preventiva, tanto dos animais quanto dos consumidores.

Os ácidos orgânicos e os compostos fitogênicos representam uma classe de aditivos que podem substituir os antibióticos promotores de crescimento (APC) com êxito. Paralelamente, também têm uma amplitude de benefícios que se estendem desde a prevenção de contaminantes dietéticos à ações anti-inflamatórias, palatabilizantes, moduladoras da microbiota e da renovação dos tecidos intestinais, além dos benefícios da sua ação antioxidante no organismo, que pode assegurar melhora na imunidade da ave e retardar a oxidação lipídica (RACANICCI et al., 2011; PARASKEUAS et al., 2017).

Obviamente, a utilização de produtos naturais, em substituição aos sintéticos, estimulou o consumidor, cada vez mais ciente das tendências globais, a posicionar-se

contrariamente à aquisição de produtos que não respeitem o bem-estar animal, que causem impactos ambientais e insegurança alimentar.

2.1 Estresse oxidativo e sistema de defesa antioxidante

A vida na aerobiose é caracterizada por uma constante produção de radicais livres (RL) contrabalanceada com a produção equivalente de mecanismos antioxidantes, que visam destruir ou neutralizar seus efeitos nocivos no organismo. Quando esta relação não é possível devido à sobrecarga do mecanismo antioxidante, dizemos que há uma situação de estresse oxidativo, levando à geração de diversos danos aos sistemas biológicos (RENZ, 2003).

Vários estudos sugeriram que o estresse oxidativo em animais de produção pode estar envolvido em condições patológicas que afetam a sua produtividade e o bem-estar animal (LYKKESFELDT E SVENDSEN, 2007). Por exemplo, o ambiente quente e úmido em aviários pode causar estresse oxidativo induzido pelo calor em galinhas, o que, por sua vez, reduz o crescimento e a qualidade dos produtos como carne, ovos e produtos cárneos (RHOADS et al., 2013).

Portanto, é importante saber que os radicais livres são moléculas produzidas e liberadas pelo metabolismo normal de indivíduos, porém tem alta instabilidade energética e cinética, o que significa que precisam doar ou retirar elétrons de uma molécula para se manter estáveis por conta dos elétrons desemparelhados em sua última camada, estado que se caracteriza como processo de redox celular e desempenha um papel duplo, com compostos tóxicos e benéficos. Esse delicado equilíbrio entre seus dois efeitos antagônicos é claramente um aspecto importante da vida (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1990; HALLIWELL, 1992; COTINGUIBA et al., 2013).

Os radicais livres têm a capacidade de existir independentemente e apresentam uma meia vida muito curta. São divididos em quatro categorias principais, com base em seu átomo central: oxigênio, nitrogênio, enxofre e cloro (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 2007). Entretanto, RL não é a designação ideal para o conjunto dos agentes reativos patogênicos, pois alguns deles não apresentam elétrons desemparelhados em sua última camada, embora participem das reações de oxirredução. Assim, os termos coletivos “espécies reativas de oxigênio” (ERO) e “espécies reativas de nitrogênio” (ERN) são considerados mais apropriados por descreverem melhor esses agentes químicos (HALLIWELL, 1992; TRACHOOTHAM et al., 2009)

es reativas de nitrogênio (ERN)

Dentre as principais ERN incluem-se o óxido nítrico (NO·), óxido nitroso (N2O3), ácido nitroso (HNO2), nitritos (NO2-), nitratos (NO3-) e peroxinitritos (ONOO-). O NO· e ONOO- são as moléculas com funções biologicamente ativas mais importantes.

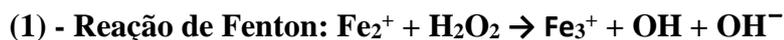
O radical óxido nítrico (NO·) pode ser produzido no organismo pela ação da enzima óxido nítrico sintetase a partir de arginina, oxigênio e NADPH, gerando também NADP+ e citrulina. O nitrato (NO3-) pode transformar-se em nitrito (NO2-), que reage com os ácidos gástricos gerando o ácido nitroso (HNO2). O óxido nitroso (N2O3) também é precursor do HNO2 através de sua reação com a água. O ácido nitroso promove a desaminação das bases do DNA que contêm o grupo amina (·NH2) livre, que são citosina, adenina e guanina, formando-se uracila, hipoxantina e xantina (BARREIROS et al., 2006).

O óxido nítrico não é suficientemente reativo para atacar o DNA diretamente, mas pode reagir com o radical ânion superóxido (O2·-), produzido pelos fagócitos, gerando peroxinitrito, que pode sofrer reações secundárias formando agentes capazes de nitrar aminoácidos aromáticos (BARREIROS et al., 2006).

2.1.2 Espécies reativas de oxigênio (ERO)

As principais ERO distribuem-se em dois grupos: os radicais- hidroxila (HO·), superóxido (O2-), peroxila (ROO·) e alcoxila (RO·) - e os não-radicais: oxigênio (O2), peróxido de hidrogênio (H2O2) e ácido hipocloroso (HClO).

A espécie reativa mais nociva é o radical hidroxil •OH dentre as ERO, sendo capaz de reagir rapidamente com quase todas as biomoléculas: carboidratos, lipídios, aminoácidos, DNA e ácidos orgânicos. Ele é gerado pelas reações de Fenton (1) e de Haber-Weiss (2), na presença de um metal de transição, geralmente ferro (Fe) ou cobre (Cu). Apresenta uma alta reatividade, o que o torna muito perigoso, além de possuir uma meia vida muito curta in vivo, de aproximadamente 10-9 segundos (PASTOR et al., 2000).



O ânion superóxido O2-, produzido a partir de processos metabólicos ou por irradiação física que "ativa" o oxigênio, é considerado a ERO "primária" e pode ainda interagir com outras moléculas para gerar as ERO "secundárias", diretamente ou predominantemente por

meio de processos catalisados por enzimas ou metais. Ao contrário da maioria dos RL, é inativo e, em meio aquoso, sua reação principal é a dismutação, na qual é produzida uma molécula de peróxido de hidrogênio e uma molécula de oxigênio (VALKO et al., 2005).

A molécula de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um não-radical, mais estável e seletivo quanto às suas reações biológicas com espécies não-radicaais, sendo rapidamente destruído por enzimas antioxidantes. Na presença de $O_2^{\bullet-}$, pode ocorrer a formação de H_2O_2 em pH fisiológico, aceitando 2 prótons e 1 elétron, em uma reação não catalisada enzimaticamente. O H_2O_2 exerce suas atividades biológicas de sinalização celular e defesa contra patógenos, por meio da oxidação de resíduos de cisteína nas proteínas. Embora essa molécula apresente baixa reatividade, ela pode ser convertida a radicais altamente reativos, como $\bullet OH$ e o $HOCl$ (BARREIROS et al., 2006).

A forma mais deletéria do oxigênio ao organismo é o oxigênio *singlete* (1O_2). Ele é a causa ou o intermediário da toxicidade fotoinduzida do O_2 nos organismos vivos (BARREIROS et al., 2006). É a forma excitada de oxigênio molecular e não possui elétrons desemparelhados em sua última camada. Podem atuar de forma benéfica, na defesa contra infecções, quando a bactéria estimula os neutrófilos a produzirem ERO com a finalidade de destruir o microrganismo (FERREIRA E MATSUBARA, 1997).

Ressalta-se que, em animais saudáveis, a produção e destruição das ERO/ERN são mantidas em equilíbrio (REUTER et al., 2010). No entanto, quando há um maior contrapeso em favor da produção das espécies reativas, isto é, disparidade entre substâncias oxidantes e antioxidantes, estabelece-se o estresse oxidativo (WANG et al., 2016). Os efeitos deletérios das ERO estão relacionados com a capacidade de se combinarem inespecificamente com qualquer molécula integrante da estrutura celular como lipídios, proteínas, carboidratos e DNA (SURAI, 2000), provocando uma reação de oxidação em cascata que pode resultar em disfunções e morte celular. Isso dependerá de fatores como a natureza do estressor, tempo de exposição e mecanismos de ação (HALLIWELL E CROSS, 1994).

Os efeitos benéficos das ERO ocorrem em concentrações baixas/moderadas e envolvem funções fisiológicas em respostas celulares, como por exemplo a defesa contra agentes infecciosos, sistemas de sinalização intracelular e indução de resposta mitogênica. Como efeitos prejudiciais, as ERO causam potenciais danos biológicos, por meio do chamado estresse oxidativo, que afeta estruturas celulares, incluindo lipídeos e membranas, proteínas e ácidos nucleicos (KOVACIC E JACINTHO, 2001; VALKO et al., 2001; RIDNOUR et al., 2005; VALKO et al., 2007). Normalmente, isto ocorre em sistemas biológicos quando há uma superprodução de ERO de um lado e uma deficiência de antioxidantes enzimáticos e não

enzimáticos de outro lado.

Sabe-se que os sistemas biológicos oferecem condições favoráveis para ocorrência de reações de caráter oxidativo, devido à existência de lipídeos insaturados nas membranas celulares e pela abundância de reações oxidativas que ocorrem durante o metabolismo normal. (JORDÃO et al., 1998). Para se proteger contra oxidação, o organismo dispõe de mecanismos de defesa antioxidante enzimática (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e não enzimáticas, que pode ter origem endógena ou dietética (NORDBERG E ARNÉR, 2001; BARBOSA et al., 2011).

2.2 Sistema de defesa antioxidante

O sistema de defesa antioxidante se divide em enzimático e não enzimático. Entre os antioxidantes não enzimáticos, a grande maioria deles, com exceção dos antioxidantes de baixo peso molecular, é obtida de fontes dietéticas, que são classificados em várias classes, das quais os polifenóis são a maior. As outras classes incluem as vitaminas C, E (α -tocoferol), carotenóides, compostos organosulfurados, minerais e cofatores que desempenham um papel importante na manutenção da saúde (RATNAM et al., 2006).

2.2.1 Sistema enzimático

As principais enzimas antioxidantes diretamente envolvidas na neutralização de ERO e ERN são: Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPx). A primeira linha de defesa da célula contra o excesso das espécies reativas tem a ação detoxificadora dos agentes oxidantes, antes que eles causem lesões. Estão presentes, essencialmente, em todas as células do corpo e atualmente existem em três isoformas: a citoplasmática, Cu/ZnSOD (ou SOD1), a mitocondrial, MnSOD (ou SOD2) e a extracelular, Cu/ZnSOD (ou SOD3) (PERRY et al., 2010).

Todas as isoformas da SOD agem por um mecanismo comum de dismutação do ânion superóxido (O_2^-), produzindo o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é menos potente em meio aquoso, como mostra a equação de redução:



Outra enzima importante que participa do sistema de defesa antioxidante é a catalase, presente em células de plantas, animais e bactérias aeróbicas, mas a sua concentração é mais

elevada em eritrócitos e no fígado (MASTERS et al., 1986). A catalase está localizada principalmente nos peroxissomos, mas também na mitocôndria e no núcleo. A enzima é considerada uma das substâncias celulares antioxidantes mais importantes do organismo, atuando na conversão do H_2O_2 em $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ para eliminar o efeito prejudicial do acúmulo das ERO (INCE et al., 2014), mantendo, assim, a homeostasia, uma vez que impede a formação do radical $\text{OH}\cdot$ que é muito prejudicial. A catalase apresenta uma das mais altas taxas de rotatividade para todas as enzimas, sendo que uma molécula de catalase pode converter aproximadamente 6 milhões de moléculas de H_2O_2 a cada minuto (VALKO et al., 2006), de acordo com a reação:

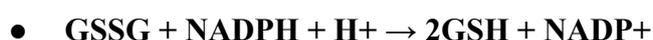


A catalase é mais eficaz quando há concentrações elevadas de H_2O_2 . Em baixas concentrações deste composto ou outros peróxidos, o sistema de defesa da glutathiona entra em ação. Essas enzimas agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de RL e espécies não radicais, envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com propagação e amplificação do processo e, conseqüentemente, com a ocorrência de danos oxidativos (TRABER, 1997; BARBOSA et al., 2011; URBANSKA et al., 2014).

As Glutathionas peroxidases (GPx) são uma família de enzimas que incluem três enzimas dependentes de selênio e uma peroxidase independente desse elemento. Podem ser divididas em dois grupos: celulares e extracelulares. Em geral, a GPx é uma proteína tetramérica (85 kDa) e requer quatro átomos de selênio vinculados como porções seleno-cisteína, que conferem a atividade catalítica. A GPx reduz o H_2O_2 a H_2O , oxidando a glutathiona (KINNULA et al., 1995), conforme a reação:



A redução da forma oxidada da glutathiona (GSSG) é catalisada pela glutathiona redutase (GR). Esta enzima não age diretamente na remoção das espécies reativas, porém é responsável pela regeneração da glutathiona na presença de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), tendo como objetivo impedir a paralisação do ciclo metabólico da glutathiona (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1989) segundo a reação:



Essa capacidade de reciclar a glutatona faz com que esse ciclo seja essencial para o mecanismo de defesa antioxidante da célula e evite o esgotamento dos tióis celulares (HEFFNER E REPINE, 1989), sendo que, para a manutenção do ambiente redutor intracelular, a razão GSH/GSSG deve ser mantida em níveis altos (SIES E MOSS, 1978; HALLIWELL E GUTTERIDGE, 2007).

Assim, a CAT e a GPx reduzem o H_2O_2 à H_2O , uma vez que o aumento do H_2O_2 inativa lentamente a SOD. Portanto, a CAT e a GPx, ao reduzir o H_2O_2 , conserva a SOD e esta, por sua vez, reduzindo o superóxido, conserva a CAT e a GPx. Baixos níveis da CAT, GPx e SOD, assim como de superóxido e peróxido de hidrogênio, são, então, mantidos por um mecanismo de feedback em organismos normais (RAHMAN et al., 2006).

Segundo Song et al (2000), em estudos com aves induzidas ao estresse observou-se que há diminuição na atividade da enzima CAT, aumento na liberação de GSH do fígado e de outros tecidos para a corrente sanguínea. Assim, a partir do sistema redox da glutatona, é possível realizar a dismutação do H_2O_2 em água e oxigênio por ação da enzima GSH-Px, obtida pela transformação da forma da glutatona reduzida para sua forma oxidada (BARREIROS et al., 2006). De acordo com Surai, (2016) existem interações complexas dentro da rede antioxidante da célula/corpo para garantir uma manutenção eficaz da homeostase em condições de estresse. Na verdade, em muitos casos, antioxidantes nutricionais (vitamina E, selênio, fitoquímicos, etc.) na ração podem também aumentar a expressão de SOD.

2.2.2 Sistema não enzimático

As defesas não enzimáticas são consideradas substâncias essenciais. Em sua maioria são exógenas, ou seja, necessitam ser absorvidos pela alimentação e não são 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 glutatona (GSH), principal composto antioxidante intracelular, vitaminas lipossolúveis (vitamina A, vitamina E), vitaminas hidrossolúveis (vitamina C, vitaminas do complexo B), os bioflavonóides (derivados de plantas), além dos carotenóides - licopeno, β -caroteno e luteína (BERGER, 2005) - e metais de transição (Zn, Cu, Se e Mg), que são potenciais formadores de espécies reativas por meio da reação com outros compostos, uma vez que sofrem reações redox.

Dessa forma, há a necessidade de serem transportados associados à 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).

Como dito acima, alguns nutrientes essenciais podem atacar diretamente as ERO. Um exemplo é a vitamina E (alfa-tocoferol), maior antioxidante lipossolúvel presente em todas as membranas celulares, que, portanto, atua na proteção contra a lipoperoxidação (KAY et al., 1986). O α -tocoferol é um potente lipídio ligado à membrana, antioxidante solúvel que é conhecido por reagir de maneira direta com oxigênio *singlet* (SETTLE E KLANDORF, 2014).

A vitamina E também é conhecida como um eliminador do radical peroxil e tem a mais potente capacidade antioxidante, em comparação com outros tocoferóis, agindo como doadores de H para o radical peroxila, interrompendo a reação radicalar em cadeia. Cada tocoferol pode reagir com até dois radicais peroxila e, nesse caso, o tocoferol é irreversivelmente desativado (BARREIROS et al, 2006). Durante um estado de deficiência, foi relatado que o baixo nível de vitamina E resultou na depleção de outros antioxidantes, como o ascorbato (SHVEDOVA et al, 2007).

A vitamina C (ácido ascórbico ou ascorbato) também é um antioxidante exógeno que pode ser derivado da dieta. A vitamina C é um importante antioxidante citosólico solúvel em água, atua como agente redutor, reduzindo metais de transição (em particular Fe^{3+} e Cu^{2+}) presentes nos sítios ativos das enzimas ou nas formas livres no organismo (HALLIWELL, 1998). Por ser um bom agente redutor, o ascorbato pode ser oxidado pela maioria das ERO que chegam ou são formadas nos compartimentos aquosos dos tecidos orgânicos. Essa vitamina possui também propriedades pró-oxidantes, pois os íons Fe^{2+} e Cu^{1+} reagem com o peróxido de hidrogênio e geram o radical hidroxila, de acordo com a reação de Fenton.



Porém, em função do Fe encontrar-se, na maior parte do tempo, ligado à proteínas de transporte ou armazenamento, em situação normal, as propriedades antioxidantes do ascorbato superam suas propriedades pró-oxidantes (BARREIROS et al, 2006). A vitamina C elimina os radicais superóxidos, bem como outros *singletes* (SETTLE E KLANDORF, 2014). Na membrana celular, ele atua em parceria com o α -tocoferol, doando um hidrogênio para esse

radical e formando o lipídio-hidroperóxido e o radical tocoferoxil; assim foi observado que existe uma relação sinérgica entre a vitamina C e a vitamina E (NIKI, 1991).

Os carotenóides também podem prevenir a peroxidação lipídica e desempenhar um papel protetor no organismo (ZHANG,1991). Embora benéfica em concentração moderada, altas doses de suplementação de β -carotenóides podem atuar como pró-oxidante (PROCHÁZKOVÁ et al., 2011).

Os flavonóides representam uma classe de fitoquímicos que são conhecidos por terem propriedades antioxidantes, dependendo de características estruturais como o número e a posição dos grupos hidroxila e o número de anéis fenólicos (PROCHÁZKOVÁ et al., 2011; RICE-EVANS,1996). Procházková (2011) descreve que os flavonoides eliminam radicais peroxil, inibem a peroxidação lipídica e quelam íons metálicos (PROCHÁZKOVÁ et al., 2011).

Frutas, vegetais, sementes oleaginosas, nozes, cereais, especiarias, ervas e grãos são fontes importantes de antioxidantes, como fenólicos, flavonóides e carotenóides. Muitas pesquisas têm sido realizadas sobre suas propriedades antioxidantes *in vivo*, *in vitro*, bem como sobre métodos de extração e purificação, aplicações em produtos alimentícios, biodisponibilidade e aspectos antinutricionais (DUTHIE E CROZIE, 2000; ABOURASHED, 2013; RE, 1999; POKORNÝ, 1991). Entre muitas fontes vegetais, bagas e frutos são conhecidos por seu alto conteúdo fenólico, incluindo ácidos fenólicos, antocianinas e sua alta capacidade antioxidante (KAHKONEN, 1999), a exemplo do ácido anacárdico.

Existe, ainda, uma série de outros antioxidantes não enzimáticos que participam da defesa contra as espécies reativas nos sistemas biológicos como, por exemplo, a ubiquinona, a ceruloplasmina, o ácido úrico, a taurina e outros compostos fenólicos de origem vegetal (HALLIWELL, 1990; SIES, 1991).

2.3 Antioxidantes

Os antioxidantes, quer sejam naturais ou sintéticos, possuem elevada estabilidade oxidativa em função de sua estrutura molecular e, por isso, desempenham papel fundamental na prevenção à oxidação de substâncias. Sendo assim, os antioxidantes podem ser definidos como compostos ou sistemas que, quando presentes no organismo, atrasam, previnem ou removem o dano oxidativo de uma molécula-alvo (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 2007).

O antioxidante pode ter ação nas membranas das células e/ou alimentos por: (1) sequestrar radicais livres, não iniciando o processo oxidação; (2) inativar íons metálicos; (3) remover

espécies reativas ao oxigênio; (4) sequestrar oxigênio; (5) destruir peróxidos e prevenir formação de radicais e (6) remover e/ou diminuir a concentração do oxigênio local (NAMIKI, 1990; SIMIC E JAVANOVIC, 1994).

A eficácia do antioxidante está relacionada à energia de ativação, potencial de oxidação-redução, facilidade com a qual o antioxidante é perdido ou destruído (volatilidade e suscetibilidade ao calor) e solubilidade antioxidante (NAWAR 1996). Além disso, o inibidor e as reações de propagação em cadeia são exotérmicos. Conforme aumentam as energias de dissociação das ligações A: H e R: H, a ativação aumenta e a eficiência antioxidante diminui. Por outro lado, à medida que essas energias de ligação diminuem, a eficiência antioxidante aumenta.

Os antioxidantes mais eficazes são aqueles que interrompem a reação em cadeia dos RL. Normalmente, por conter anéis aromáticos ou fenólicos, esses antioxidantes doam H • aos RL formados durante a oxidação, tornando-se, eles próprios, um radical. Esses intermediários radicais são estabilizados pela deslocalização de ressonância do elétron dentro do anel aromático e formação de estruturas quinonas (NAWAR 1996). Além disso, muitos dos fenólicos carecem de posições adequadas para o ataque de oxigênio molecular. Ambos os antioxidantes sintéticos - hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA) - e os extratos vegetais que contêm fenólicos (flavonóides) funcionam dessa maneira.

Segundo Bailey (1996), os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos. Os antioxidantes primários são compostos fenólicos (mono ou tetrafenólicos) que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, por meio da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. Os principais antioxidantes e mais conhecidos deste grupo são os polifenóis, como BHA, BHT, terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propil galato (PG), que são sintéticos, e tocoferóis, que são naturais (NAMIKI, 1990). Os tocoferóis também podem ser classificados como antioxidantes biológicos (NAMIKI, 1990; BAILEY, 1996).

Os sinergistas são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada com eles. Alguns antioxidantes primários, quando usados em combinação, podem atuar sinergicamente (BAILEY, 1996).

Os removedores de oxigênio são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, por meio de reações químicas estáveis, tornando-os, conseqüentemente, indisponíveis para atuarem como propagadores da auto-oxidação. Ácido ascórbico, seus

isômeros e derivados são os melhores exemplos deste grupo. O ácido ascórbico pode atuar também como sinergista na regeneração de antioxidantes primários (BAILEY, 1996; BELITZ, 1998).

Os antioxidantes biológicos incluem várias enzimas, como glucose oxidase, superóxido dismutase e catalases. Estas substâncias podem remover oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício (BAILEY, 1996; KEHRER E SMITH 1992).

Os agentes quelantes/sequestrantes complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhados na sua estrutura molecular promove a ação de complexação. Os mais comuns são ácidos cítricos e seus sais, fosfatos e sais de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (BAILEY, 1996; LABUZA, 1971).

Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonóides e derivados de ácido cinâmico (ácido caféico) (BAILEY, 1996).

2.4 Ácidos orgânicos e aditivos fitogênicos na alimentação de aves

2.4.1 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos são constituintes naturais das plantas e animais. Alguns podem ser formados por intermédio da fermentação microbiológica no intestino e outros em rotas metabólicas intermediárias. Na fermentação microbiana acontece a produção de ácidos orgânicos que estabelecem um importante fornecimento energético para os animais (LEHNINGER et. al., 1995, LANGHOUT E SUS 2005). Como um grupo de produtos químicos, são considerados ácidos orgânicos qualquer ácido carboxílico orgânico da estrutura geral R-COOH (incluindo ácidos graxos e aminoácidos) e eles estão associados à atividade antimicrobiana (SHAHIDI et al. 2014).

Quando utilizados na produção animal, o termo ácido orgânico é empregado aos ácidos fracos e de cadeia curta (C1-C7) e são classificados como ácidos monocarboxílicos simples: ácido fórmico (C1), acético (C2), propiónico (C3) e butírico (C4) ou ácidos carboxílicos com grupo hidroxila: ácido láctico, málico, tartárico e cítrico, que produzem menor quantidade de prótons por molécula ao se dissociarem (SCHEUERMANN, 2009). Podem ser utilizados também na forma de sais ou ésteres (HAYASHI, 2012) e estão disponíveis no mercado na forma líquida ou em pó para serem aplicados na água de bebida ou na ração.

Uma característica importante dos ácidos orgânicos é a formação de quelatos, estruturas

em forma de anel com íons metálicos. Eles previnem a reação dos íons metálicos, como cálcio (Ca^{+2}), ferro (Fe^{+2}), cobre (Cu^{+2}), magnésio (Mg^{+2}), assim como outros nutrientes, aumentando a digestibilidade mineral e a retenção desses, ao mesmo tempo que inibem a sua ação como catalisadores de reações danosas (GIESTING E EASTER, 1985, ADAMS, 1999)

Suplementados nas dietas, os ácidos orgânicos e seus sais podem ter efeito benéfico sobre o desempenho, diminuindo os microrganismos patógenos, atuando na porção proximal do trato digestivo (estômago e intestino) e acidificando o meio (BANSOD et al., 2020).

A forma não dissociada dos ácidos orgânicos é solúvel em lipídeos e, dessa maneira, tem a capacidade de penetrar passivamente a parede celular bacteriana. Dentro do citoplasma, diminuem o pH interno, afetando o metabolismo celular, assim como o gradiente de prótons e cargas com o meio externo, interferindo no sistema enzimático (descarboxilases e catalases), inibindo a glicólise, impedindo o transporte ativo e interferindo na transdução de sinal (KHAN et al., 2016, BANSOD et al., 2020).

Outro dano causado no interior da célula pela presença do ácido é o aumento da pressão osmótica celular, que provoca desequilíbrio das cargas elétricas, obrigando o aumento dos níveis de sódio (Na^+) e potássio (K^+). Isso ocasiona o aumento da pressão mecânica sobre a parede celular, podendo levar até o rompimento do microrganismo (MROZ et al., 2006).

A eficácia de um ácido na inibição de microrganismos pode estar ligada a diferentes fatores, tais como seu valor de pKa, que é o pH no qual 50% do ácido está dissociado, também o tipo de ácido (comprimento e tipo de insaturação), acidez e capacidade tamponante da digesta intraluminal, especificidade dos patógenos, tempo de exposição, da temperatura do ambiente e nível de inclusão (MROZ et al., 2006).

Concentrações mínimas são específicas para cada ácido (STRAUSS; HAYLER, 2001), sendo bactérias Gram-negativas sensíveis a ácidos com menos de 8 carbonos, enquanto bactérias Gram-positivas são sensíveis a ácidos de cadeias mais longas (PARTANEN, 2001, HUYGHEBAERT et al. 2011).

Assim, é compreensível que cada ácido tenha seu próprio espectro de atividade microbiana relacionada a uma faixa específica de pH, estrutura de membrana, fisiologia celular e espécies da microbiota. As utilizações da mistura de vários ácidos orgânicos representam uma série de valores de pKa e são usadas, já que desempenham espectro mais amplo de sua atividade antimicrobiana semelhante ao dos antibióticos.

2.4.1.1 Ácido cítrico

O ácido cítrico (AC) é um ácido orgânico fraco, tricarboxílico (2-hidroxi-1, 2,3-propanotricarboxílico), presente na maioria das frutas, principalmente nas cítricas. Pode ser classificado como promotor de crescimento, acidulante, inibidor bacteriano, mas é considerado um antioxidante por quelar íons metálicos (GAVA, 2009; SALGADO-TRÁNSITO et al., 2011; ISLAM, 2012). Seu modo de absorção é o transporte dependente de Na^+ , mecanismo através da membrana da borda em escova intestinal (WOLFFRAM ET AL., 1990, 1992).

Apresenta-se cristalino e inodoro e, quando acrescentado na ração animal, tem apresentado respostas positivas quanto ao ganho de peso diário, eficiência alimentar, além de melhorar a conversão alimentar, sendo metabolizado através do ciclo do ácido cítrico como fonte de energia. Além disso, o ácido cítrico pode apresentar efeito sinérgico como antioxidantes, prevenindo a oxidação de óleos e gorduras (PARTANEN e MROZ, 1999; BELLAVER, 2000; DIBNER e BUTTIN, 2002; BRAZ, 2007; VILAS BOAS, 2014).

Este ácido orgânico é produzido em grande escala por microrganismos e, portanto, tem baixo efeito antimicrobiano. Sua principal função é reduzir o pH gástrico que, por sua vez, aumenta a pepsina e a proteólise gástrica (KIRCHGESSNER E ROTH, 1982), resultando em aumento de peptídeos que desencadeiam a liberação de hormônios, incluindo a gastrina e colecistocinina, que regulam a digestão e absorção de proteínas e aumentam significativamente a digestibilidade da fibra bruta (ATTAPATTU & NELLIGASWATTA, 2005).

Em pH reduzido, o AC pode servir como doador de prótons para fitar e prevenir a formação de complexos insolúveis de cálcio com fitato. A hidrólise do fitato aumenta o que resulta em liberação de fósforo (P), que pode diminuir a eficácia das fitases (BALLAM et al., 1984; YI et al., 1996; MAENZ E CLANSEN, 1998; RAVINDRAN et al., 2000; MAENZ, 2000). O ácido cítrico vem sendo usado em vários países como alternativa aos antibióticos promotores de crescimento (ESTIEVE et al., 1997). Estudos diferentes revelaram que o AC é um aditivo útil tendo mais potencial como promotor de crescimento em comparação com os promotores avilamicina (CHOWDHURY et al., 2009) e flavomicina (HAQUE et al., 2010).

Seu uso cria um ambiente ácido (pH 3,5 a 4,0) no intestino que favorece o desenvolvimento de lactobacilos e inibe a replicação de *Escherichia coli*, *Salmonella* e outras bactérias gram-negativas, tornando a área de absorção mais eficaz (DOFING E GOTTSCHAL, 1997) e os nutrientes mais disponíveis (BOLING et al., 2001). Ele age na ativação de enzimas proteolíticas, estimulando o consumo de ração, melhorando a palatabilidade, reduzindo a produção de amônia e outros metabólitos microbianos que

deprimem o crescimento e diminuem a incidência de infecções subclínicas (CHOWDHURY et al., 2009). Outra ação da utilização do AC na dieta é a redução na taxa de esvaziamento gástrico e menor formação de sais insolúveis de cálcio, permitindo que uma maior quantidade de cálcio seja absorvida (RADCLIFFE *et al.*, 1998).

Chowdhury et al., (2009) e Haque et al. (2010), estudando diferentes tipos de pintos de corte, observaram respostas positivas à suplementação de AC na melhoria da utilização do P e aumento na cinza da tíbia, sendo o AC considerado um bom indicador de mineralização óssea em aves domésticas. Islam, em 2012, relatou que o AC aumentou a proporção da altura das vilosidades/profundidade da cripta e aumentou as bactérias benéficas, enquanto diminuiu os organismos patogênicos na alimentação e no intestino (EIDELSBURGER & KIRCHGESSNER, 1994; DEEPA et al., 2011).

No entanto, por não ser um forte agente antimicrobiano, observa-se seu uso potencial em combinação com outros ácidos orgânicos ou outros aditivos, com o objetivo de melhorar o desempenho das aves. Ao nível do metabolismo, uma dosagem elevada de AC dietético pode causar acidose no sangue, que ocorre quando o pH do sangue cai abaixo de 7,4. As mudanças dietéticas desempenham papéis críticos na ocorrência de acidose (REMER, 2000).

Mudanças do equilíbrio ácido-base normal em direção à acidose resultaram em desempenho suprimido (BUSHINSKY et al., 1999). Al-Sharafatet et al., (2009) e Esmailipour et al., (2012) observaram que suplementação de AC em nível superior (4%) pode ter efeito negativo na palatabilidade, que causa diminuição no consumo de ração e pode causar também menor peso corporal dos frangos de corte. Boling et al., (2000) e Snow et al. (2004) observaram que dietas contendo 38g/kg de AC não melhoraram a utilização de P dietético para poedeiras, já Brenes et al. (2003) relataram que a combinação de fitase e ácido cítrico não melhorou a disponibilidade de fósforo e cálcio acima do obtido com a fitase sozinha.

No geral, é importante notar que a adição de AC na dieta aumenta a disponibilidade de minerais, mas apenas até certo nível na dieta padrão, o que pode refletir na melhoria do estado de saúde das aves e na qualidade externa e interna dos ovos de poedeiras. Sendo assim, o ácido cítrico pode ser considerado uma alternativa potencial ao promotor de crescimento quando adicionados em dietas para aves, considerando seus efeitos na melhoria da saúde intestinal, crescimento, eficiência de conversão alimentar, utilização de macro minerais, qualidade da carcaça e retornos econômicos resultantes da produção comercial.

2.4.2 Aditivos fitogênicos

As propriedades medicinais das plantas têm sido observadas desde a antiguidade e a primeira avaliação da utilização de extratos de plantas com atividade antibacteriana data de 1881 (RIZZO et al., 2008). No Brasil, devido à grande biodiversidade existente, o uso de plantas como medicamentos teve influência das culturas indígenas, africanas e europeias (DI STASI, 1996).

Na metade do século XIX, cerca de 80% de todos os medicamentos eram derivados de plantas, mas seu uso ficou cada vez mais restrito com a revolução inspirada pelo desenvolvimento da indústria farmacêutica e os fármacos sintéticos passaram a prevalecer ante a medicina tradicional (CALIXTO, 2019). No entanto, no século XX, com as guerras mundiais, o interesse pelas plantas medicinais voltou devido à necessidade de medicamentos eficientes e de baixo custo para múltiplas enfermidades (HOTESTTMANN et al., 2003).

O fator mais importante que contribuiu para o surgimento do interesse no uso de plantas na produção animal é o rigor das legislações em torno dos aditivos convencionais (GREATHEAD, 2003). Nos Estados Unidos de América o grupo dos aditivos fitogênicos, a exemplo dos óleos essenciais, é reconhecido pela Food and Drug Administration (FDA) como substâncias seguras para uso na alimentação dos animais e seres humanos (Code of Federal Regulations, Title 21, v.6; Part 582) (JANG et al., 2007). Na Europa, tem o seu uso em rações autorizado pela Diretiva do Conselho 70/524/EEC Cap. III (SUZUKI et al., 2008), após uma avaliação demonstrando que esses aditivos não têm efeitos nocivos à saúde humana, animal e ambiente.

A busca por produtos alternativos intensificou-se claramente nos últimos anos com o aumento das regulamentações relacionadas ao uso de antibióticos promotores de crescimento (APC) e o aumento da demanda do consumidor por produtos avícolas produzidos sem o uso de antibiótico, que são denominados: “Raised Without Antibiotics” ou “No Antibiotics Ever” (GADDE et al., 2017)

Para alimentação animal no Brasil, o uso de aditivos é regulamentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e definido como “substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizado normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais – IN 13/04 (alterada pela IN 44/15)”, MAPA (2021).

Os aditivos fitogênicos para rações são comumente definidos como substâncias derivadas de partes da planta, incorporados à dieta para melhorar a produtividade da pecuária,

na promoção do seu desenvolvimento e melhoria das qualidades dos alimentos derivados desses animais (WINDISCH et al., 2008). Qualificados como uma classe relativamente nova dentro dos aditivos, os fitogênicos e sua utilização na produção animal estão associados ao início do conhecimento das propriedades dos fitoquímicos, fitobióticos e compostos secundários de plantas (GABBI et al., 2009; SINGH e GAIKWAD, 2020).

Segundo Hashemi e Davoodi (2011), os aditivos fitogênicos compreendem uma grande variedade de substâncias com respeito à origem biológica, formulação, caracterização química e pureza, estando divididos em quatro subgrupos: 1) ervas (produto da floração, não lenhoso e de plantas não persistentes), 2) plantas (partes inteiras ou processadas de uma planta, por exemplo, raiz, folhas, cascas), 3) óleos essenciais (compostos lipofílicos extraídos por vaporização ou destilação a álcool) e 4) oleoresinas (extratos baseados em solventes não aquosos ou extração direta).

Windisch et al. (2008) afirmam que a utilidade dos fitogênicos para contribuir com a saúde do hospedeiro é bem documentada. Segundo os mesmos autores, os fitogênicos representam um grupo diverso de produtos naturais, alguns dos quais podem ser nutricionalmente valiosos, mas muitos não têm valor nutricional ou mesmo propriedades nutricionais.

Embora os números não sejam precisos, uma estimativa é que exista mais de 320.000 metabólicos secundários conhecidos (BANERJEE et al., 2015) e acredita-se que até 1.000.000 de metabólitos diferentes sejam produzidos no reino vegetal e continuam sendo descobertos e explorados pelos diversos ramos científicos (SAITO et al., 2010). Outra categoria de compostos é extraída exclusivamente de frutas. Elas são representadas por polifenóis solúveis em água (flavonoides) que também podem ser usados na alimentação animal (LOPEZ-BOTE, 2004).

O conteúdo de substâncias ativas nesses produtos pode variar muito dependendo de qual parte da planta é usada (grãos, folhas, raízes, cascas, flores ou botões), estágio de maturidade, origem geográfica e fatores genéticos que lhes conferem vantagens adaptativas (MARTINS et al., 1995). Estas substâncias, geralmente, não se encontram em estado puro nas plantas, mas sob a forma de complexos, cujos diferentes componentes se completam e reforçam sua ação sobre o organismo (OETTING, 2005).

Segundo Martins et al. (1995) muitos desses compostos são capazes de provocar reações nos organismos vivos e, devido a esta característica, são chamados de princípios ativos, caracterizando tais plantas como medicinais por possuírem atividade terapêutica devido à existência de um ou mais princípios ativos. Martins et al. (2000) e Huyghebaert

(2003) descreveram que os princípios ativos são compostos químicos derivados do metabolismo secundário das plantas com baixo peso molecular, quando comparados com os metabólitos primários, sendo usualmente classificados de acordo com a sua rota biossintética.

De acordo com Pereira e Cardoso (2012), a origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato. O ácido chiquímico é precursor de taninos hidrolisáveis, cumarinas, alcalóides derivados dos aminoácidos e fenilpropanóides, compostos que têm em comum a presença de um anel aromático na sua constituição. Os derivados do acetato são os aminoácidos alifáticos e os alcalóides derivados deles; terpenóides, esteróides, ácidos graxos e triglicerídeos.

Segundo Lillehoj et al. (2018) os aditivos fitogênicos têm sido testados na forma de extrato seco ou aquoso (brutos ou concentrados), ou através de óleos essenciais e oleoresinas, dependendo do processo usado para derivar os ingredientes ativos.

Os extratos são preparações concentradas extraídas a partir de matérias-primas vegetais, podendo ser obtidos por meio de diferentes processos, sendo que os mais utilizados são a hidrodestilação (extração com clevenger), destilação por arraste a vapor, extração com solventes orgânicos, enflourage (uso de solventes vegetais), maceração, extração por CO₂ supercrítico e prensagem a frio (SMITH et al., 2005; SIMÕES et al., 2007). Segundo Oetting (2005), a principal diferença entre os extratos vegetais e os óleos essenciais é o método de extração. Os óleos essenciais, apesar de não deixarem de ser considerados extratos vegetais, são obtidos somente pelo método de extração a vapor.

Para compreender a justificativa da utilização destas plantas faz-se necessário conhecer seus componentes químicos e principais atividades biológicas. Na Tabela 1 encontram-se as principais plantas, especiarias e frutas usadas para extração de aditivos fitogênicos.

Tabela 1. Princípio ativo e propriedades de aditivos fitogênicos utilizados na alimentação de aves

Nome popular	Nome científico	Princípio ativo	Parte	Modo de ação
Açafrão da Índia	<i>Curcuma zedoaria longa</i>	Curcumina	Folha	Antioxidante; anti-inflamatório; redução de colesterol; aumento da secreção biliar; indutor de apoptose de células defeituosas
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Cineol; rosmarinol; rosmaricina, timol	Folha	Estimulante da digestão; antibacteriano; antioxidante
Alho	<i>Allium sativum</i>	Alicina	Bulbo	Antisséptico; estimulante da digestão, antibacteriano
Bocônia	<i>Macleaya cordata</i>	Sanguinarina	Hastes, folhas e sementes	Analgésico, anti-inflamatório, antimicrobiano, imunomodulador
Boldo do Chile	<i>Peumus boldus</i>	Boldina; eucaliptol; ascaridol; pneumosídeo; boldosídeo	Folhas	Antioxidante; estimulante de secreção enzimática; estimulante secreção biliar
Chá verde	<i>Camellia sinensis L.</i>	Epigallocatequina-galato; cafeína	Folhas	Antioxidante; anti-inflamatórios, antiaterogênicos, hipoglicemiantes, anticarcinogênicos; antiparasitário
Caju	<i>Anacardium occidentale</i>	Ácido anacárdico, cardol, cardanol	Fruto	Antioxidante, Anti-inflamatória, antimicrobiano, antitumoral
Canela	<i>Cinnamomum spp</i>	Cinaladeído; Eugenol; Linalol	Casca	Antibacteriano; estimulante da digestão; antioxidante
Cominho	<i>Cuminum cyminum</i>	Cuminaldeído; y-terpine	Semente	Estimulante da digestão, antibacteriano
Cravo	<i>Syzygium spp</i>	Eugenol	Semente	Antibacteriano; antifúngica
Feno Grego	<i>Trigonella foenumgraecum</i>	Trigonelina; ácido malônico; carpaína; tigogenina	Semente	Antioxidante; estimulante de apetite
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i>	Gingerol	Rizoma	Estimulante gástrico; antibacteriano
Hortelã-Pimenta	<i>Mentha piperita</i>	Mentol	Folha	Estimula o apetite e a digestão, antisséptico, antioxidante

Tabela 1. Princípio ativo e propriedades de aditivos fitogênicos utilizados na alimentação de aves

Louro	<i>Laurus nobilis</i>	Cineol	Folha	Estimulante da digestão; antimicrobiano; antisséptico
Manjeriço	<i>Ocimum asilicum</i>	Cineol, linalol, citral, estragol, eugenol	Folha	Antimicrobianas, inseticidas, nematicidas, fungicidas, anti-inflamatórias, antioxidantes
Mamona	<i>Ricinus communis</i>	Ricina, ricinina	Folha e sementes	Anticarcinogênico; antioxidante e anti-inflamatório
Moringa	<i>Moringa oleifera</i>	Ácido beénico	Folha	bactericida, diurético, estrogênica, vermífugo
Noz moscada	<i>Myristica fragrans</i>	Sabinina	Semente	Estimulante da digestão e antidiarreico
Oliva	<i>Oleo europea L.</i>	Hidroxitirosol, tirosol, ácido caféico	Folhas e fruto	Antioxidante
Orégano	<i>Origanum spp</i>	Carvacrol; timol; carvone; γ terpine; pCimene	Folha	Antibacteriano; antifúngica
Pimenta vermelha/preta	<i>Capsicum spp</i>	Capsaicina; piperina;	Fruto	Anti-inflamatório; antidiarreico; estimulante da digestão
Sálvia	<i>Salvia spp</i>	Cineol; pineno; salviol	Folha	Estimulante da digestão, antibacteriano; antifúngica; antioxidante
Tomilho	<i>Thymus spp</i>	Timol; carvacrol; p-cimene; geraniol	Folha	Antibacteriano; antioxidante; antifúngica
Uva	<i>Vitis vinifera</i>	Antocianinas; flavanas; catequina; epicatequina; procianidinas; antocianinas; resveratrol	Folhas e semente	Antioxidante; aumenta HDL; antibacteriano; antiviral; anti-inflamatória

Fonte: Adaptado de BURT (2004); BUTOLO (2005) e FASCINA (2011).

2.4.2.1 Extratos fitogênicos e sua aplicabilidade na avicultura

A inclusão de aditivos tem fornecido forte auxílio na manutenção da qualidade dos ingredientes das rações. Estes compostos se apresentam cada vez mais seguros quanto ao seu uso e inclusão nas formulações, visando evitar qualquer prejuízo aos animais e aos consumidores, minimizando os resíduos nos produtos consumidos pelo homem e diminuindo a contaminação do ambiente (CATALAN et al., 2012; LEMOS et al., 2016).

O uso de aditivos fitogênicos em dietas de aves já não é um assunto tão atual. Entretanto, seu potencial de resposta, quando incluído nas dietas, ainda é algo surpreendente. Os extratos fitogênicos possuem diversas características e podem ser aplicados para auxiliar em diversos aspectos, desde a saúde do animal até o estímulo para aumentar a ingestão de alimento. Além disso, contribuem para o equilíbrio da microbiota intestinal, pois proporcionam melhor consumo de ração, incremento de secreções digestivas, aumento das atividades antioxidantes e a eubiose do trato gastrointestinal (GONZÁLEZ, 2008). Essas melhorias tornam o aproveitamento de nutrientes mais eficiente nos animais.

2.4.2.2 Ação antimicrobiana

O metabolismo secundário das plantas pode originar produtos com atividade antimicrobiana. Estudos para quantificar e verificar esta atividade tem sido realizado *in vitro* (DORMAN & DEANS, 2000; NASCIMENTO et al., 2000; BONA et al., 2012; WITKOWSKA et al., 2013).

Embora os efeitos benéficos de muitas alternativas desenvolvidas tenham sido bem demonstrados, faltam informações sobre seu mecanismo de ação, eficácia, vantagens e desvantagens de suas aplicações no campo, sendo algumas hipóteses sugeridas: 1) controle de patógenos pela atividade antimicrobiana e modulação da microbiota intestinal; 2) atividade antioxidante; 3) atividade imunomodulatória e 4) atividade sobre o TGI resultando em melhoria do desempenho animal (OETTING, 2005; WINDISCH et al., 2008).

Negi (2012) acredita que o mecanismo de ação da atividade antimicrobiana dos aditivos fitogênicos aconteça mediante ruptura da membrana por terpenóides e compostos fenólicos, bem como a quelatação de metais por fenóis e flavonóides, e seu efeito sobre o material genético por cumarina e alcaloides que inibem o crescimento de microrganismos. De acordo com o mesmo autor, o alvo exato dos agentes antimicrobianos naturais, muitas vezes, não é conhecido ou bem definido, dificultando o conhecimento do local específico de ação

onde ocorrem as reações.

Pesquisas baseadas no método de Concentração Mínima Inibitória (CMI), como índice de eficiência bacteriostática, demonstraram que os extratos vegetais possuem efeitos muito próximos aos antibióticos disponíveis no mercado, mas não existe um processo padrão como existe para antibióticos (KAMEL, 2000). Além disso, existem variações que podem dificultar as comparações entre os dados: métodos de extração, fase de crescimento bacteriano, meio de cultura utilizado, microrganismo utilizado (FRIEDMAN et al., 2002), época de coleta das plantas e a quantidade de extrato testada (OSTROSKY et al., 2008). Para garantir a utilização adequada, deve ser consenso entre a comunidade científica a preocupação com a qualidade, padronização, realização de ensaios clínicos e verificação da eficácia (HASHEMI & DAVOODI, 2011).

Alguns fitogênicos têm demonstrado ação antimicrobiana, quando adicionados à alimentação animal, podendo melhorar a higiene das carcaças (WINDISCH et al., 2008), diminuindo a carga total de bactérias, bem como de agentes específicos como *Salmonella* nas carcaças de frangos (AKSIT et al., 2006). O efeito antimicrobiano também melhora a saúde intestinal dos animais, protegendo-os de toxinas microbianas e outros metabólitos indesejáveis, como amônia e aminas biogênicas, o que resulta no alívio do desafio intestinal e do estresse imunológico, melhorando, assim, o desempenho animal (FRANZ et al., 2010; KIM et al., 2015)

Os óleos essenciais (OEs) e seus compostos derivados atuam, principalmente, a partir do potencial hidrofóbico, por invadir a membrana celular bacteriana, desintegrar estruturas de membrana e promover liberação dos íons de hidrogênio (H^+) e potássio (K^+), causando a ruptura e, conseqüente, morte da célula (DORMAN E DEANS, 2000). De acordo com os mesmos autores, o rompimento das paredes celulares das bactérias deve-se ao caráter lipofílico dos OEs que se acumulam nas membranas. Esses compostos também são relatados por sua ação contra patógenos e predadores e vários estressores ambientais (HUYGHEBAERT 2003).

As ações dos OEs nas células microbianas diferem na presença de grupos funcionais, especialmente aqueles que contêm fenol e aldeídos, a exemplo do cinamaldeído, citral, timol e eugenol. Eles atuam como componentes principais e mostram considerável atividade antibacteriana (DORMANS E DEANS, 2000), mas têm mecanismos de ação diferentes em bactérias gram-negativas e gram-positivas, uma vez que as bactérias gram-negativas são menos sensíveis do que as gram-positivas em relação aos OEs (DORMAN E DEANS 2000; KOHLERT et al. 2000). As bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa que

contém lipossacarídeos. Eles atuam como uma barreira à difusão dos componentes hidrofóbicos dos OEs (NAIK et al., 2010), o que explica a maior resistência destas bactérias (CHAO et al., 2000; SAKOMURA et al., 2014).

Segundo Burt, (2004) outras substâncias não fenólicas também apresentam atividade antibacteriana, como por exemplo as saponinas. A atividade antimicrobiana das saponinas, que são compostos glicosídeos de esteróides e terpenos policíclicos, deve-se à complexação destas com os esteróides de membrana presentes nos microrganismos que promovem alteração da permeabilidade e destruição das membranas (SCHENKEL et al., 2001; HASHEMI & DAVOODI, 2011).

Brugalli (2003) ressalta que, na prática, a maioria dos EVs deveria ser incluída em altíssimas doses para ter o mesmo efeito bactericida ou bacteriostático observados *in vitro*. Assim, no animal, o modo de ação e local de atuação dos componentes ativos presentes nos aditivos fitogênicos (fitocomponentes e fitomoléculas) são dependentes de sua estrutura, metabolismo e do nível de inclusão.

Um crescente corpo de evidências científicas têm demonstrado que muitas das atividades de promoção da saúde dos fitoquímicos são mediadas por sua capacidade de aumentar a defesa do hospedeiro contra infecções microbianas e este efeito têm sido comprovados *in vivo* com frangos de corte (ALLEN et al., 1998; YOUNG et al., 2003; KOSCOVA et al., 2006; TOLEDO et al., 2007; BONA et al., 2012; ABUDABUS et al., 2018) e poedeiras (BOTSOGLOU et al., 1997; PARPINELLO et al., 2005; BOLUKBASI e ERHAN 2007; CHILANTE et al., 2012; AHMAD et al 2018), evidenciando seu potencial como alternativa aos antibióticos e quimioterápicos utilizados nas rações.

Allen et al. (1998) verificaram que a suplementação de ração com 1% de açafrão melhora o ganho de peso e reduz as lesões intestinais e a excreção de oocistos em frangos infectados com *Eimeria maxima*. A curcumina exerce seu efeito anticoccidiano por meio de sua ação antioxidante sobre o sistema imunológico.

Em estudos com OEs de orégano e tomilho, Burt e Reindeers (2003) notaram um efeito antibacteriano contra *E. coli* (gram -) na dose de 0,6 ml/l. Koscova et al. (2006) ressaltaram que o OE de orégano contém cerca de 60% carvacrol e 10% de timol ativo contra *Salmonelas* localizadas no trato digestivo de frango. No entanto, os autores reforçam que, para ter uma boa eficácia contra vários tipos de microrganismos, é interessante combinar vários extratos desprovidos de incompatibilidade química.

Lippens et al. (2005), ao comparar os extratos de canela, orégano, tomilho, pimenta caiena, cítricos e ácidos orgânicos com promotores de crescimento (avilamicina) em frango,

observaram que os EVs suplementados nas aves melhoraram a taxa de conversão alimentar (0,4% menor do que o grupo avilamicina e 2,9% menor do que o grupo dos ácidos orgânicos).

Bolukbasi e Erhan (2007) estudaram o efeito da suplementação alimentar com tomilho sobre o desempenho de poedeiras e concentrações de *E. coli* em suas fezes. A adição de tomilho à dieta basal no nível de 0,1 - 0,5% proporcionou uma melhoria na conversão alimentar e produção de ovos associada ao declínio da concentração de *E. coli* nas excretas.

Avaliando o desempenho de frangos de corte criados em galpões com baixo desafio sanitário, Toledo et al. (2007) verificaram melhor ganho de peso e maior taxa de viabilidade nos tratamentos que receberam uma mistura de OEs de orégano, canela, eucalipto (*Eucalyptus* spp), artemísia (*Artemisia vulgaris* L.) e trevo (*Trifolium* spp.).

O uso de extrato de semente de uva em dietas para frangos de corte manteve os valores de conversão alimentar e ganho de peso similares aos das aves suplementadas com antibióticos promotores de crescimento (APC) na ração, sendo os resultados atribuídos à capacidade antioxidante deste composto (NAIDOO et al., 2008).

Matrizes pesadas que receberam dieta contendo OEs (tomilho, orégano, alecrim e pimenta) também apresentaram resultados promissores com relação à integridade da mucosa intestinal e aumento na produção de ovos (CHILANTE et al., 2012). Roofchae et al. (2011) encontraram melhorias na conversão alimentar, no ganho de peso e diminuição nos níveis de *Escherichia coli* cecal com a inclusão de 600 mg de óleo de orégano em rações de frangos da linhagem Ross 308.

Lee et al. (2011) descreveram que aves desafiadas contra coccidiose apresentam melhora de desempenho e de diversos parâmetros imunológicos, quando suplementadas com óleo-resina de pimenta. Os autores evidenciam que os mecanismos responsáveis pelo efeito sobre a resposta imune ainda não foram determinados; mesmo assim, afirmam que o uso de óleo-resina de pimenta pode ser uma alternativa profilática para controlar os efeitos negativos causados pela coccidiose nas aves.

Bona et al., (2012) constataram que a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Clostridium perfringens* foi reduzida no conteúdo do ceco das aves que receberam OEs de orégano, alecrim, canela e pimenta vermelha na dose de 100 ppm em relação ao grupo controle. Eles também observaram que a utilização do composto vegetal e avilamicina diminuiu a excreção de *Salmonella* em aves 72 horas após a inoculação de 10^5 UFC de *Salmonella Enteritidis*.

Utilizando OE de mamona, Bess et al. (2012) verificaram melhora no desempenho das aves (ganho de peso e conversão alimentar), afirmando os autores que esse fato poderia estar

relacionado às atividades antimicrobianas e anti-inflamatória dos OEs. Sadeghi et al. (2013) relataram que a suplementação de gengibre em pó nas rações reduz a umidade da cama de frangos de corte desafiados contra *Salmonella*, devido à menor incidência de diarreia, diminuindo assim os índices de mortalidade do lote, elevando o desempenho em relação a dietas livres de antibiótico. Porém, os autores ressaltaram que os resultados foram inferiores ao de aves recebendo APC nas rações.

Segundo Abudabos et al. (2018), frangos Ross 308 desafiados por *Clostridium perfringens*, tratados com dietas com adição de orégano, diminuíram as lesões intestinais com melhora na morfologia intestinal e diminuíram a resposta inflamatória, com incremento na imunidade específica.

2.4.2.3 Ação antioxidante

A reação espontânea do oxigênio atmosférico com os lipídios, conhecida como auto-oxidação, é o processo mais comum que leva à deterioração oxidativa. Esse processo, em geral, inicia-se na ligação carbono-hidrogênio, adjacente à dupla ligação da cadeia de carbono, podendo ser catalisado por grande número de fatores, tais como os ambientais (umidade, calor, luz e oxigênio), pela presença de metais (cobre, ferro e manganês) e de enzimas (ADAMS, 1999).

A deterioração oxidativa de ração ou alimento como ovos, carne e produtos cárneos leva à produção de aroma desagradável, diminuindo a segurança e a qualidade do alimento pela formação de produtos potencialmente tóxicos e outros compostos durante o processamento e cozimento, o que diminui a aceitação do produto por parte do consumidor (LEE E SHIBAMOTO, 2002; LIN et al., 2016).

Os antioxidantes naturais, assim como os antioxidantes sintéticos, agem na fase de iniciação da reação, interferindo na participação do O₂ ou competindo com os radicais livres dos ácidos graxos (BOBBIO et al., 1992). As atividades de sequestro de radicais livres e antioxidantes dependem do arranjo dos grupos funcionais ao redor da estrutura nuclear, sendo que o número e a configuração dos grupos hidroxila, doadores de hidrogênio, são as principais características que as influenciam (CAO et al., 1996).

Nos últimos anos, o uso de aditivos fitogênicos como antioxidantes naturais tem atraído o interesse por parte da indústria por apresentar grande capacidade antioxidante quando adicionado aos alimentos e produtos cárneos ou até mesmo substituindo produtos sintéticos como BHT e BHA, antioxidantes amplamente utilizados nas rações animais

(RACANICCI et al., 2004).

A atividade antioxidante dos fitogênicos são atribuídas aos metabólitos secundários das plantas, tais como certos compostos fenólicos (BOURNE E RICE-EVANS et al., 1997), carotenóides (MILLER et al., 1996) e flavonóides (PIETTA, 1999). Quando esses compostos reagem com um radical livre, têm a ação de inativá-los, pois apresentam a capacidade de doar um átomo de hidrogênio. Ocorre assim, portanto, a estabilização pelo efeito de ressonância do núcleo aromático, que evita a continuação da reação em cadeia do radical livre (TSAO E DENG, 2004). Quando esses compostos são absorvidos pelos animais, há retenção de pequena quantidade nos tecidos, porém em concentrações suficientes para apresentar atividade antioxidante (BOTSOGLUO et al., 2004).

Quantitativamente, os compostos fenólicos são os antioxidantes mais representativos do reino vegetal e podem ser quimicamente definidos como substâncias que possuem um anel aromático com uma ou mais hidroxilas. Podem também apresentar outros grupos substitutivos em sua estrutura, como ésteres, metil-ésteres e glicosídeos (MARTÍNEZ-VALVERDE et al., 2000). Esses compostos apresentam capacidade de inibir a oxidação por meio de uma variedade de mecanismos, em vez de um único modo de ação, típico dos antioxidantes sintéticos (CUVELIER, RICHARD E BERSET, 1992; KAHKONEN et al., 1999).

As ervas medicinais naturais têm sido sugeridas como bons antioxidantes e têm sido usadas como aditivos para rações na produção de animais por mais de 2.000 anos (WANG et al., 1998), demonstrando exercer seus benefícios antioxidantes positivos no desempenho, qualidade de produção e sistema antioxidante endógeno, afetando diretamente alvos moleculares específicos ou, indiretamente, afetando a via metabólica (ANSARI et al., 2012; LEE et al., 2013). Por exemplo, a suplementação de óleo essencial de *Zataria multiflora* na dieta pode atrasar a peroxidação e deterioração microbiana de filés de peito de frango (JEBELLI et al., 2013).

Na seleção de antioxidantes naturais, os extratos de plantas devem apresentar ausência de odor ou sabor estranho ao produto, uma vez que alguns fitogênicos guardam compostos com aroma extremamente acentuado, como, por exemplo, o eugenol (cravo), o timol (tomilho) e o carvacrol (orégano). Desta forma, eles não devem ser acrescentados em grandes quantidades nos alimentos, pois podem influenciar o sabor do produto final (MADSEN; BERTELSEN; SKIBSTED, 1997), limitando assim seu uso como agente antioxidante.

Outro fator importante na escolha dos aditivos fitogênicos é que estes devem apresentar estabilidade no processo de aquecimento e nas condições de armazenamento, além de ser de fácil aplicação e incorporação ao alimento (MELO; GUERRA, 2002). Na

alimentação de animais, os OEs têm papéis como agentes hipolipemiantes e imunomoduladores, bem como aliviadores do estresse térmico (TUZCO et al., 2008; SAHIN et al., 2011).

Os efeitos da adição de aditivos fitogênicos no desempenho da produção de aves têm apresentado resultados promissores. Botsoglou et al. (1997) avaliaram o efeito da ração contendo extrato de tomilho sobre a estabilidade oxidativa de ovos, mensurada pela formação de malondialdeído. Estes autores observaram que esse antioxidante foi efetivo em manter a estabilidade lipídica dos ovos, armazenados a 4°C por 60 dias, comprovando assim a eficácia do aditivo.

Young et al. (2003) fizeram um estudo visando melhorar os efeitos negativos do estresse sobre as características de qualidade de carne. Frangos foram alimentados com uma combinação de ácido ascórbico (1000 ppm) e α -tocoferol (200 ppm) ou de orégano (3%). Os autores verificaram que as atividades das enzimas antioxidantes (catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase) na musculatura do peito, da coxa e do fígado foram afetados pela suplementação, reduzindo as atividades oxidantes gerados pelo estresse.

Botsoglou et al. (2005), ao incluírem o extrato de açafraão (10 ou 20 ppm) na dieta de poedeiras, observaram que a atividade antioxidante promovida pelo extrato, nos ovos, aumentou com a maior concentração do extrato. Parpinelli et al. (2006) adicionaram o extrato de alecrim (500 e 1000 ppm) em rações enriquecidas com ácidos graxos polinsaturados da série n-3. Estes autores avaliaram a qualidade sensorial dos ovos com a estocagem e observaram que a inclusão do antioxidante foi efetiva em manter as características sensoriais dos ovos.

Em alguns estudos com extratos de carvacrol, cinamaldeído e óleo resina de capsicum, em dosagem de 150mg/kg na ração de frangos de corte Ross 308, observou-se que as propriedades da carne de frango como a maciez, paladar, tenacidade e firmeza, apresentaram melhorias, além de ganho nas propriedades químicas, como a diminuição de malonaldeído e o aumento de ácidos graxos poli-insaturados (İPÇAK E ALÇIÇEK, 2018).

Ahmad et al. (2018), ao suplementar poedeiras *HyLine W36* de 50 semanas de idade com 0,5, 1,0 ou 1,5% de folha seca em pó de *Moringa oleifera* (MLM), concluíram que MLM pode ser usado como aditivo fitogênico para rações, pois o mesmo melhora o desempenho da produção, o estado de saúde das poedeiras e enriquece ovos com bioativos e compostos funcionais, agregando assim valor ao produto.

2.4.2.4 Ácido anacárdico

Originário da América Tropical, o cajueiro pertence à família *Anacardiaceae* e é considerado uma das mais importantes espécies cultivadas nas regiões tropicais. Ele envolve o gênero *Anacardium*, a variedade mais comum, *Anacardium occidentale* L., é uma árvore originária do norte e nordeste do Brasil, apresentando como principal produto de expressão econômica a amêndoa comestível e o líquido da casca da castanha do caju (LCC) (AGOSTIN-COSTA et al., 2004).

O LCC é um líquido viscoso, escuro e oleoso, que pode ser extraído da castanha de caju. Este compreende 25% do peso do fruto e se constitui como umas das fontes mais ricas em compostos fenólicos alquílicos do *Anacardium occidentale*, formado por uma mistura de quatro constituintes: ácido anacárdico (ácido 3-n-pentadecilsalicílico), cardóis (3-n-pentadecilresorcinol), metilcardóis (2-metil-5-n-pentadecilresorcinol) e cardanóis (3-n-pentadecilfenol) (MOREIRA et al., 1998; TREVISAN et al., 2006; VIEIRA et al., 2007).

Grandes quantidades de ácido anacárdico foram detectadas na castanha de caju, contido no LCC (353,6g/kg), em que é o principal constituinte; em menor concentração, também é encontrado no pedúnculo do caju (6,1g/Kg), sendo parte destes transferidos para o suco e a outra, remanescente, permanece no bagaço após a extração do suco e na castanha torrada (0,65g/Kg) (TREVISAN et al., 2006; BROINIZI et al., 2008).

Convencionalmente, a quantidade e a qualidade do LCC no extrato bruto dependem do método de extração e das condições do acondicionamento das castanhas. A extração comercial desse líquido faz do LCC uma possibilidade de agregar valor à exploração da cultura do caju e pode ser realizada a quente, forma mais utilizada na indústria de beneficiamento da castanha para obtenção da amêndoa, ou a frio. A extração a quente produz um LCC diferente do extraído a frio, pois, com o aquecimento, o ácido anacárdico sofre descarboxilação e é convertido em cardanol.

O líquido extraído no processo de extração a quente é chamado de “LCC técnico” e apresenta uma composição de aproximadas 63%-65% de cardanol, 11%-20% de cardol e 24% de material polimérico (TYMAN, 1975, LUBI, 2003; LUBIC, 2003). Já o “LCC natural” é o líquido obtido pela extração realizada por meio do uso de solventes e contém aproximadamente 65%-70% de ácido anacárdico, 11-20% de cardol e 2-3% de 2-metil cardol. (LUBI, 2003).

O LCC configura-se como uma matéria-prima valiosa, em função da abundância e das características estruturais dos seus compostos fenólicos constituintes de caráter aromático e

acíclico, aliado à existência de diversos grupos funcionais no anel aromático, uma cadeia alquílica lateral com 15 átomos de carbono e múltiplas insaturações na cadeia alifática no C-8. A abundância, a versatilidade e os vários registros de atividades biológicas de constituintes fenólicos do LCC e seus derivados, em conjunto, têm motivado ao longo de alguns anos o interesse em pesquisas no campo químico e biológico (SANTOS E MAGALHÃES, 1993; SANTOS E MAGALHÃES, 1999; LOGRADO, 2005).

Em relação a sua composição química, o ácido anacárdico é uma mistura de ácidos 6-alquil-salicílico, lipossolúveis, em que os grupos alquílicos variam tanto no comprimento da cadeia lateral como no grau de instauração, sendo mais frequentes cadeias mono, di ou tri-insaturadas. O comprimento das cadeias alquílicas influencia nas atividades biológicas do ácido anacárdico, que podem estar relacionadas com o aumento da solubilidade das porções fenólicas nas regiões lipídicas, em que 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 poliprenilica do tocoferol (CORREIA et al, 2006).

Ao longo dos anos, vários autores vêm apontando as diversas funções bioativas deste composto fenólico. Dentre elas podemos destacar: atividade antiinflamatória (OLAJIDE et al., 2004), antigenotóxica, (MELO-CAVALCANTE et al., 2011), antiulcerogênica (BEHRAMAN et al., 2012), antibacteriana, antifúngica, larvicida (BEHRAMAN et al., 2012), gastroprotetora (MORAIS et al., 2010), propriedade inibitória de enzimas α -glucosidase, invertase e da aldose redutase, tirosinase, xantina oxidase, lipo-oxigenase (GRAZZINI et al., 1991; KUBO et al., 2006; OMANAKUTTAN et al., 2012) e da ciclooxigenase, possuindo também atividade antimutagênica e antioxidante (MELO-CAVALCANTE et al., 2003; MASUOKA e KUBO, 2004; TREVISAN et al., 2006).

A atividade antimicrobiana do líquido da castanha de caju tem sido atribuída ao número de terpenóides e de compostos fenólicos (OSMARI et al., 2015). Para Benchaar et al. (2008) e Osmari et al. (2015), uma importante característica deste aditivo e seus componentes é seu caráter lipofílico, que permite o rompimento dos lipídios da membrana celular bacteriana, desorganizando as estruturas e tornando-as mais permeáveis, levando à morte bacteriana.

Em estudos avaliando o potencial de modulação da microbiota, López et al. (2012), ao suplementar as dietas de frango de corte com o LCC, observaram que o produto não influenciou as variáveis produtivas; porém, ele controlou a proliferação de *E.coli*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella spp.* no conteúdo intestinal dos animais.

Trevisan et al. (2006), ao analisarem a capacidade antioxidante do ácido anacárdico, cardanois e cardois presentes no caju (pseudofruto, castanhas e LCC), observaram que esse ácido tem maior capacidade antioxidante em comparação a cardois e cardanois. As propriedades antioxidantes do ácido anacárdico são capazes de proteger as células humanas do estresse oxidativo (TREVISAN et al., 2006; MORAIS et al., 2010). Essa atividade é promovida pela cadeia alquênil, estando associada com a ligação hidrofóbica da xantina oxidase (MASUOKA e KUBO, 2004).

Ela pode ocorrer de várias formas, incluindo a inibição de enzimas pró-oxidativas envolvidas na produção de espécies reativas de oxigênio. A conversão da maioria das espécies reativas de oxigênio na presença de íons metálicos é a quelação dos íons divalentes tais como o Fe^{+2} e o Cu^{+2} , sendo esta uma vantagem adicional a partir do momento que reduz o efeito de transição da catalização do metal na peroxidação lipídica (MASUOKA e KUBO, 2004).

Sabe-se, então, que agentes quelantes que formam ligações com um metal são eficazes como antioxidantes secundários, pois reduzem o potencial redox, estabilizando a forma oxidada do íon metálico (LODOVICI et al., 2001; KUBO et al., 2006). Outro importante ponto é que, no organismo animal, espécies reativas de oxigênio são produzidas na redução do oxigênio molecular à água (ROSS e MOLDEUS, 1991) e o ácido anacárdico pode reforçar a barreira celular, diminuindo a incidência das espécies reativas no meio intracelular, evitando lesões pela oxidação dos tecidos.

Quanto à absorção do ácido anacárdico pelos animais, Kubo et al. (2006) sugeriram que ele é absorvido no trato gastrointestinal e direcionado para os locais onde está sendo necessário. Para a avaliação desses compostos na alimentação animal é necessária uma análise dos parâmetros sanguíneos, pois estes estão relacionados com o estado nutricional e sanitário das aves.

Braz et al., (2017), ao avaliar os parâmetros bioquímicos sanguíneos, bem como a atividade enzimática e a peroxidação lipídica do fígado e tecidos do sistema reprodutor (ovário, magno e útero) de poedeiras comerciais alimentadas com dietas contendo líquido da castanha de caju (LCC) como uma fonte de ácido anacárdico, observaram que a adição de LCC em até 1% na ração de poedeiras não influenciou os parâmetros bioquímicos do sangue, a atividade de enzimas relacionada ao estresse oxidativo no fígado, ovário, magno e útero e o desempenho das aves (BRAZ et al., 2019).

Na qualidade dos ovos também não foi observado nenhum prejuízo nas variáveis avaliadas. Contudo, constatou-se melhorias na pigmentação e estabilidade lipídica da gema (BRAZ et al. 2019) e do ovário (BRAZ et al., 2018) com a adição de 0,75% do LCC. Esse

nível de adição, também foi efetivo em reduzir a oxidação lipídica em gemas frescas e armazenadas (ABREU et al. 2017).

Avaliando a oxidação lipídica da carne dos frangos alimentados com anacardato de cálcio, Abreu et al. (2019) verificaram que a adição de 0,75% na ração foi suficiente para reduzir a oxidação lipídica e que o nível de 1% apresentou efeito pró-oxidante. Na alimentação de codornas japonesas na fase de postura, Santos (2014) observou que a adição de até 1% não influenciou no desempenho e qualidade dos ovos

Cruz et al., (2019), ao adicionarem até 1% de anacardato de cálcio como fonte de ácido anacárdico na dieta de frangos de corte, não observaram efeitos nos parâmetros sanguíneos ou os parâmetros enzimáticos e oxidativos no fígado das aves.

Em estudos com frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com folha em pó de *Anacardium occidentale*, em comparação com antibiótico e antioxidante sintético, Adeyemi et al., (2021) constataram que o aditivo em pó exibiu propriedades antimicrobianas e antioxidantes comparáveis às respostas à oxitetraciclina e BHA em dietas de frangos de corte. No entanto, os autores ressaltaram que a eficácia do aditivo precisa ser verificada sob desafio de doença ou condição de saúde comprometida.

3. ANACARDATO DE CÁLCIO E SUAS ASSOCIAÇÕES COM ÁCIDO CÍTRICO NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS: DESEMPENHO E QUALIDADE DOS OVOS

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão do anacardato de cálcio (ANC), associado ou não ao ácido cítrico (AC) na ração de poedeiras, sobre o desempenho e a qualidade interna e externa dos ovos frescos. Foram utilizadas 432 poedeiras da linhagem comercial *Hy-Line W-36* no período de 63 a 75 semanas de idade, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com nove tratamentos e seis repetições. Os tratamentos consistiram em: T1 – ração sem adição de aditivos ácidos; T2 – ração com adição de 0,25% de ANC; T3 – ração com 0,25% de ANC associado a 0,25% de AC; T4 – ração com 0,50% de ANC; T5 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,25% de AC; T6 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,50% de AC; T7 – ração com 0,75% de ANC; T8 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,25% de AC; T9 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,50% de AC. Foram avaliados: o consumo de ração, a porcentagem de postura, a massa de ovo, a conversão alimentar, avaliação do pH e desenvolvimento do trato e características de qualidade interna e externa dos ovos. Não se observou efeito significativo dos tratamentos sobre o desempenho das poedeiras, pH, peso relativos do trato gastrointestinal, moela, fígado e sistema reprodutor, porcentagem de gema, albúmen e casca, densidade específica, unidades Haugh e espessura da casca. Quanto à pigmentação e estabilidade lipídica dos ovos, apresentaram efeito significativo. A cor da gema apresentou maior pigmentação para os tratamentos com 0,75% de ANC e suas associações com o AC (0,25 e 0,50) e inferior para tratamento controle e inclusão de 0,25% de ANC. Para estabilidade lipídica das gemas, observou-se menor oxidação para as gemas dos ovos dos tratamentos com doses isoladas de ANC (0,50% e 0,75%) e para os ovos das aves que consumiram ração sem antioxidante; 0,25% de ANC; 0,50% de ANC associado a 25% de AC e 0,75% de ANC associado a 0,25 e 0,50% de AC, apresentaram efeito pró-oxidante, visto que a capacidade antioxidante diminuiu. A adição de doses crescentes de ANC, associado ou não ao AC, melhoram a pigmentação da gema dos ovos e doses isoladas (0,50 % e 0,75%) reduzem a peroxidação lipídica nas gemas

Palavras chave: Ácidos orgânicos, Antioxidante natural, *Anacardium occidentale L.* Composto fenólico, Pigmentação, Peroxidação lipídica.

CALCIUM ANACARDATE AND ITS ASSOCIATIONS WITH CITRIC ACID IN COMMERCIAL LAYER FEEDING: EGG PERFORMANCE AND QUALITY

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of the inclusion of calcium anacardate (ANC) associated or not with citric acid (AC) in the diet of laying hens on the performance and internal and external quality of fresh eggs. A total of 432 laying hens of the commercial line Hy-Line W-36 were used in the period from 63 to 75 weeks of age. Distributed in a completely randomized design, with nine treatments and six replications. The treatments consisted of: T1 – ration without addition of acid additives; T2 – ration with the addition of 0.25% of ANC; T3 – diet with 0.25% ANC associated with 0.25% AC; T4 – ration with 0.50% of ANC; T5 – diet with 0.50% ANC associated with 0.25% AC; T6 – diet with 0.50% ANC associated with 0.50% AC; T7 – ration with 0.75% of ANC; T8 – diet with 0.75% ANC associated with 0.25% AC; T9 – diet with 0.75% ANC associated with 0.50% AC. The following were evaluated: feed intake, laying percentage, egg mass, feed conversion, pH assessment and tract development, and internal and external quality characteristics of the eggs. There was no significant effect of treatments on laying hens performance, pH, relative weight of the gastrointestinal tract, gizzard, liver and reproductive system, percentage of yolk, albumen and shell, specific gravity, Haugh units and shell thickness. As for the pigmentation and lipid stability of the eggs, they showed a significant effect. Yolk color showed higher pigmentation for treatments with 0.75% ANC and its associations with AC (0.25 and 0.50) and lower for the control treatment and inclusion of 0.25% ANC. For yolk lipid stability, lower oxidation was observed for egg yolks from treatments with isolated doses of ANC (0.50% and 0.75%) and for eggs from birds that consumed diet without antioxidant; 0.25% ANC; 0.50% of ANC associated with 25% of AC and 0.75% of ANC associated with 0.25 and 0.50% of AC, showed a pro-oxidant effect, since the antioxidant capacity decreased. The addition of increasing doses of ANC associated with no to AC improves the pigmentation of the yolk of eggs and isolated doses (0.50% and 0.75%) reduce lipid peroxidation in the yolks.

Keywords: *Anacardium occidentale L*, Lipid peroxidation, Natural antioxidant, Organic acids, Phenolic compound, Pigmentation.

INTRODUÇÃO

A avicultura mundial tem passado por mudanças importantes no sistema de produção de carne e ovos e, para manter-se competitivo no mercado, o Brasil necessita de atualização e desenvolvimento constante de tecnologias que possibilitem elevar os índices de produção, sendo a nutrição um dos aspectos mais importantes. Destaca-se, neste cenário, a retirada total de promotores de crescimento e outras substâncias utilizadas como aditivos na alimentação de aves.

A literatura mostra que os ácidos orgânicos podem melhorar a eficiência alimentar e o desempenho, apresentando potencial para substituir o APC na alimentação animal, devido as suas habilidades de redução do pH e seus efeitos inibitórios em bactérias patogênicas diminuindo assim as necessidades metabólicas dos animais. Por sua vez, isto aumenta a disponibilidade de nutrientes para o hospedeiro, além de ser fontes de energia e estimulantes da secreção de enzimas endógenas (ADIL et al., 2010; POLYCARPO et al., 2017).

Os fitogênicos são outra classe de aditivos que tem se destacado por suas diversas propriedades, tais como ação antibacteriana e imunomodulatória, que pode melhorar o desempenho produtivo animal, por meio da melhora na saúde intestinal das aves (FARAHAT et al., 2016), além de sua propriedade antioxidante, que pode retardar a oxidação lipídica da carne e dos ovos, obtendo um produto final de melhor qualidade e que pode acarretar em melhor tempo de prateleira (PARASKEUAS et al., 2017; RACANICCI et al., 2011).

Porém, existem evidências que sugerem que o uso combinado de diferentes aditivos surge como uma solução promissora para substituir os APC na ração quando comparados a um único aditivo, devido aos seus efeitos sinérgicos na saúde intestinal, desempenho, digestão e absorção de nutrientes (HUANG et al., 2015).

O Brasil é conhecido mundialmente por sua biodiversidade de frutas e outros vegetais que contêm substâncias antioxidantes distintas e atividades comprovadas nos últimos anos. Nesse contexto, o ácido anacárdico, composto fenólico encontrado nas diferentes partes do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) e em maior proporção na castanha de caju, vem sendo estudado e os relatos encontrados descrevem este ácido com grande capacidade antioxidante que foi relacionada à inibição da formação de superóxidos que também possui um efeito gastroprotetor (TREVISAN et al., 2006; MORAIS et al., 2010)

Na qualidade dos ovos constatou-se melhorias na coloração e na estabilidade lipídica da gema (BRAZ et al., 2019) com a adição de 0,75% do LCC. Essa porcentagem de adição também foi efetiva em reduzir a oxidação lipídica em gemas frescas e armazenadas (ABREU

et al. 2017). Diante do exposto, objetivou-se avaliar a ação do anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico nas rações de poedeiras comerciais leves sobre os parâmetros de desempenho, pH, desenvolvimento do trato gastrointestinal e qualidade dos ovos.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do líquido da casca da castanha de caju e preparação do anacardato de cálcio

O resíduo da castanha de caju foi adquirido no município de Pacajus-Ce, Brasil, em uma empresa de beneficiamento do fruto. Após a aquisição, as cascas torradas da amêndoa de caju foram trituradas em um picador forrageiro (GTI-2000LDF) e acondicionadas em recipientes de vidro, no qual permaneceram submersas em álcool etílico 99,5° GL na proporção de 1:1, em temperatura ambiente, por um período de sete dias. Em seguida, o material foi peneirado e o solvente foi removido e submetido à evaporação, em evaporador rotativo (MARCONI- MA120/THV) a 50°C, rotação de 60 rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente e obtenção do LCC, conforme metodologia apresentada por Trevisan et al., (2006).

O processamento do LCC para a preparação do anacardato de cálcio foi realizado no Laboratório de Extração de Produtos Naturais (LAEX), localizado nas instalações do Setor de Avicultura, do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC). A obtenção do anacardato de cálcio foi realizada a partir da separação do ácido anacárdico que estava presente no LCC, por meio da precipitação na forma de anacardato de cálcio, conforme metodologia adaptada de Paramashivappa et al., (2001).

Para obtenção do anacardato de cálcio a partir do LCC, utilizou-se um Becker de 4L no qual foram adicionados 550mL de LCC, 150mL de água destilada e 2.850mL de etanol. Essa solução foi aquecida, sob agitação, até a temperatura de 50°C, permanecendo nessa condição por quatro horas, mantendo-se a temperatura constante. Ao longo do procedimento, em intervalos de dez minutos, foram incorporados à mistura 250g de hidróxido de cálcio. Após as quatro horas de aquecimento e agitação, o ácido anacárdico presente no LCC reagiu com o hidróxido de cálcio formando o anacardato de cálcio, que se precipitou no fundo do recipiente e foi separado dos demais componentes da mistura.

Para tanto, a solução foi deixada para decantação por uma hora em temperatura ambiente. Em seguida, o sobrenadante foi retirado e adicionou-se 800 mL de etanol e a mistura foi submetida às mesmas condições de agitação e aquecimento por uma hora. Logo em

seguida, procedeu-se a decantação por uma hora e a retirada do sobrenadante. O precipitado foi levado a estufa de ventilação para secagem.

Quantificação do ácido anacárdico das amostras

Cascas de castanha de caju (*Anacardium occidentale-L*), cortadas em pequenos fragmentos, foram exaustivamente extraídas com aquecimento brando para obtenção de um líquido escuro e cáustico (LCC). Em um Erlenmeyer foram dissolvidos hidróxido de cálcio em água. A esta solução, mantida sob agitação, foi adicionado o LCC dissolvido em etanol e a mistura foi deixada sob forte agitação. O anacardato de cálcio precipitado sintetizado foi filtrado a vácuo e lavado com etanol. A mistura de 1,1 g de anacardato de cálcio foi transferida para um Erlenmeyer com 3 mL acetato de etila, 8,8 mL água e HCl P.A. (1,2 mL) e a mistura mantida sob vigorosa agitação durante uma hora. A mistura foi filtrada em funil de Büchner e o filtrado foi transferido para um funil de separação. Em seguida, foi realizada uma partição líquida – líquido com acetato de etila (2 x 3 mL), obtendo uma fase orgânica rica em ácido anacárdico, que foi posteriormente lavada com água Mili – Q (200 mL) e seca com sulfato de sódio anidro. O extrato foi rotaevaporado para eliminação do solvente e obtenção de uma fração contendo apenas o ácido anacárdico (Paramashivappa et al., 2001). A proporção de ácido anacárdico no anacardato de cálcio foi de 66,65%

Experimento com aves

O projeto foi aprovado pela comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFC) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo nº 9616090320. Realizado no Setor de Avicultura/DZ/CCA/UFC, em um galpão convencional para criação de poedeiras, em gaiolas de arame galvanizado (25 x 40 x 45 cm), com capacidade para duas aves por gaiola. Para a condução do experimento foram alojadas 432 poedeiras da linhagem comercial *Hy-Line W-36* com 63 semanas de idade. Essas aves foram selecionadas com base no peso ($1,44 \pm 0,100$ kg) e produção de ovos (80% de postura) e distribuídas uniformemente nas gaiolas, de modo que todas as repetições passem a conter aves com pesos e produção de ovos similares, conforme recomendações de Sakomura e Rostagno (2007). Durante o período experimental, os dados de temperatura e de umidade relativa média do ar foram coletados no início da manhã (08h) e no final da tarde (16h), sendo as médias de temperatura ambiente máxima e mínima e umidade relativa do ar no galpão, durante o período experimental, de 26,54/32,8°C e 73/80%, respectivamente. As temperaturas foram registradas por intermédio de termômetros de

máxima e mínima e a umidade relativa do ar por meio do termohigrômetro.

Delimitação, tratamentos e rações experimentais

As aves foram distribuídas nas gaiolas ao acaso, composto por nove tratamentos e seis repetições de oito aves cada. Os tratamentos consistiram em: T1 – ração sem adição de aditivos ácidos; T2 – ração com adição de 0,25% de ANC; T3 – ração com 0,25% de ANC associado a 0,25% de AC; T4 – ração com 0,50% de ANC; T5 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,25% de AC; T6 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,50% de AC; T7 – ração com 0,75% de ANC; T8 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,25% de AC; T9 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,50% de AC.

Para obtenção da ração experimental de cada tratamento (Tabela 2), formulou-se a ração controle, de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo manual da linhagem (*HY-LINE INTERNACIONAL, 2016*) e foram considerados os valores nutricionais dos ingredientes (milho, farelo de soja e óleo) apresentados por Rostagno et al. (2017), sendo as demais obtidas pela substituição do inerte de acordo com a inclusão do anacardato de cálcio e ácido cítrico na proporção de cada tratamento.

Tabela 2. Composição percentual e nutricional calculada da ração controle utilizada para poedeiras leves.

Ingredientes	Quantidades (%)
Milho	62,30
Farelo de soja	22,00
Calcário	9,95
Óleo de soja	2,26
Fosfato bicálcico	1,53
DL-Metionina	0,14
L-Lisina	0,02
Suplemento vitamínico ¹	0,10
Suplemento mineral ²	0,05
Sal comum	0,41
Inerte ³	1,25
Total	100,00
Composição nutricional calculada	
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	2.800
Proteína bruta (%)	15,00
Matéria seca (%)	89,60
Cálcio (%)	4,35
Fósforo digestível (%)	0,37
Lisina digestível (%)	0,69
Metionina +cistina digestível (%)	0,62
Metionina digestível (%)	0,37
Triptofano digestível (%)	0,58
Sódio (%)	0,18

¹ Composição por kg de produto: Vit. A – 9.000.000,00 UI; Vit. D3 – 2.500.000,00 UI; Vit. E – 20.000,00 mg; Vit. K3 – 2.500,00 mg; Vit. B1 – 2.000,00 mg; Vit. B2 – 6.000,00 mg; Vit. B12 – 15,00 mg; Niacina – 35.000,00 mg; Ácido pantotênico – 12.000,00 mg; Vit. B6 – 8.000,00 mg; Ácido fólico – 1.500,00 mg; Selênio – 250,00 mg; Biotina – 100,00 mg. ² Composição por Kg do produto: Ferro – 100.000,00 mg; Cobre – 20,00 g; Manganês

– 130.000,00 mg; Zinco – 130.000,10 mg; Iodo – 2.000,00 mg; ³ Inerte: Areia lavada.

Avaliações do desempenho das aves

Na avaliação do desempenho das aves foram avaliadas as variáveis:

Consumo de ração (g/ave/dia) - a ração fornecida, no início, e as sobras, ao final de cada fase, foram pesadas e por diferença foi calculado o consumo de ração.

Percentagem de postura (%/ave/dia) - a produção de ovos foi registrada diariamente por gaiola e, no final de cada período, foram calculadas as percentagens de postura por repetição.

Massa de ovo (g/ave/dia) – a partir do número de ovos e do peso médio do ovo foi calculada a massa de ovo por repetição e por período.

Conversão alimentar (kg de ração/massa de ovo) – a partir dos dados de consumo de ração e da massa de ovo produzida foi realizado o cálculo da conversão alimentar para cada repetição por período.

Avaliação da qualidade externa e interna dos ovos frescos

Para a avaliação da qualidade dos ovos, durante os períodos experimentais, um dia por semana todos os ovos de cada parcela foram coletados, identificados e levados para o laboratório de avaliação da qualidade de ovos, localizado nas dependências do Setor de Avicultura/DZ/CCA/UFC, onde foram armazenados à temperatura de 22°C até o dia seguinte, quando foram realizadas as medidas para o cálculo das variáveis de qualidade dos ovos, a serem estudadas:

Peso médio dos ovos (g) - a determinação do peso médio dos ovos (g) foi realizada por meio de pesagens individuais de todos os ovos de cada repetição, em balança semi- analítica, com sensibilidade de 0,01g. Depois da pesagem, foi calculado o peso médio.

Terminada a pesagem dos ovos, foram selecionados três ovos por parcela para serem submetidos, em sequência, as demais determinações:

Densidade específica (g/cm³) – a densidade específica (DE) dos ovos foi determinada conforme procedimentos descritos por Freitas et al. (2004). Para obtenção do peso do ovo no ar e na água foi montado o sistema de pesagem dos ovos sobre balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g. Os dados foram anotados para o cálculo da DE através de uma planilha do programa de Excel.

Qualidade do albúmen (unidade Haugh) – a avaliação da qualidade do albúmen foi realizada com a determinação da unidade Haugh. Para isso, após a determinação da densidade

específica, os ovos foram quebrados sobre uma superfície plana de vidro e com a utilização de um micrômetro de profundidade foi medida a altura (mm) do albúmen denso. Com as medidas de peso do ovo no ar e altura do albúmen foram realizados os cálculos utilizando-se a equação: $UH = 100 \times \log (H - 1,7 \times P^{0,37} + 7,6)$, em que: UH = unidades Haugh; H = altura do albúmen em mm e P = peso do ovo em grama.

Percentual (%) gema - após a medida da altura do albúmen, foi separado o albúmen da gema, sendo esta retirada e pesada. Para se obter o seu percentual, o peso da gema foi dividido pelo peso do ovo, multiplicando-se o valor obtido por 100.

Percentual (%) de casca - após a quebra dos ovos, as cascas foram separadas, lavadas e postas para secar em estufa com circulação de ar e temperatura de 55 ° C, por 48 horas. Depois de secas foram pesadas em balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g. Para se obter o percentual, o peso da casca foi dividido pelo peso do ovo, multiplicando-se o valor obtido por 100.

Percentual (%) de albúmen - o percentual de albúmen foi obtido por diferença, onde: % albúmen = 100 – (% gema + % casca).

Espessura da casca (mm) – para a determinação da 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 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.

Cor da gema do ovo - após a pesagem das gemas, estas foram submetidas à avaliação da pigmentação, através do sensor de cor *YolkFan*TM, que permite a digitalização precisa das cores da gema do ovo por medições objetivas na escala de 1 a 16. Esse aparelho utiliza os mesmos tons de cores do leque colorimétrico e funciona por meio de sensores de LED altamente sensíveis e sua própria fonte de luz, o que significa que a cor da gema do ovo pode ser medida sem interferência da luz.

Avaliação do pH e desenvolvimento do trato digestório

Para avaliar o desenvolvimento dos órgãos do trato digestório, ao final do sexto período (75 semanas de idade), foram selecionadas duas aves por parcela para serem sacrificadas, com posterior dissecação da moela, fígado, intestinos e sistema reprodutor.

As aves selecionadas foram mantidas com água e ração até o momento de serem eutanasiadas, através da insensibilização por eletronarcose seguida de sangria. Após a morte, foi realizada a pesagem das aves, em balança eletrônica com precisão de 1g. Para a retirada

dos órgãos, as aves foram molhadas e, em seguida, a cavidade abdominal foi aberta com o uso de tesouras de necropsia. Depois de retirados, os órgãos foram esvaziados e pesados em balança eletrônica com precisão de 0,01g. Estes pesos foram utilizados para o cálculo do peso relativo, expresso em porcentagem do peso vivo.

Para a determinação do pH do conteúdo presente em cada segmento, durante o esvaziamento, este foi colhido em béquer contendo 15 mL de água destilada, homogeneizado e deixado em descanso por 5 minutos. Em seguida, foi determinado o pH com a utilização de um peagâmetro (Hanna HI 2222®).

Análises estatísticas dos dados

As análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando o “Statistical Analyses System” (SAS, 2000), considerando-se o nível de 5% de probabilidade para significância em todas as análises. Os dados das variáveis de desempenho, qualidade externa e interna dos ovos e avaliação do pH e desenvolvimento do trato digestório foram submetidos à análise de variância pelo procedimento ANOVA, segundo um modelo inteiramente casualizado. A comparação das médias foi realizada pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desempenho das poedeiras

Os resultados médios de consumo de ração, produção de ovos, peso do ovo, massa do ovo e conversão alimentar das poedeiras alimentadas com ração contendo anacardato de cálcio e sua associação com o ácido cítrico estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo anacardato de cálcio e sua associação com o ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.

Tratamentos	Consumo (g/ave/dia)	Produção (%/ave/dia)	PO ⁵ (g)	MO ⁶ (g/ave/dia)	CA ⁷ (g/g)
Ração sem antioxidantes	93,43	79,96	63,09	50,51	1,85
0,25% de ANC ¹	94,00	82,00	63,04	51,83	1,82
0,25% de ANC + 0,25% AC ²	94,21	81,57	63,61	51,85	1,82
0,50% de ANC	93,69	82,64	63,40	52,38	1,79
0,50% de ANC + 0,25% AC	94,32	80,18	63,34	51,24	1,84
0,50% de ANC + 0,50% AC	93,80	80,19	63,13	50,57	1,86
0,75% de ANC	94,61	79,90	63,43	50,85	1,86
0,75% de ANC + 0,25% AC	93,94	80,80	62,94	50,84	1,86
0,75% de ANC + 0,50% AC	93,15	80,06	63,90	51,21	1,84
Média	93,97	80,81	63,32	51,25	1,84
EPM ³ (%)	0,1104	0,4939	0,1556	0,3188	0,0110
Efeito estatístico		<i>p-valor</i>			
ANOVA ⁴	0,3106	0,8970	0,9203	0,9082	0,9007

ANC¹- Anacardato de cálcio; AC²- Ácido cítrico; EPM³- Erro padrão da média (P<0,05); ANOVA⁴- Análise de variância;

PO⁵- Peso do ovo; MO⁶- Massa de ovo; CA⁷- Conversão alimentar;

A utilização isolada de anacardato de cálcio e sua combinação com ácido cítrico na ração de poedeiras comerciais não influenciou significativamente ($P>0,05$) nenhuma das variáveis de desempenho avaliadas.

Em algumas situações, altas concentrações de compostos fenólicos podem contribuir para a adstringência e sabor amargo dos alimentos (VIEIRA et al., 2011). Desta forma pode-se observar que a adição dos aditivos na dieta das aves não causou alterações na palatabilidade, tendo em vista que o consumo pelas aves alimentadas com ração sem adição dos aditivos (controle), não diferiu significativamente daqueles que consumiram ração com a adição de ácidos na dieta.

Observa-se também que o atendimento das exigências em aves destinadas à produção de ovos está diretamente relacionada ao consumo de ração e aproveitamento dos nutrientes da dieta pelas aves, sendo as exigências de proteína, aminoácidos e energia normalmente os fatores nutricionais mais importantes que afetam o peso do ovo (LEESON e SUMMERS, 1997). Considerando que as rações experimentais foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas, pode-se inferir que o anacardato de cálcio associado ou não ao ácido cítrico não influenciou o aproveitamento da energia e nutrientes da ração, atendendo as exigências em energia metabolizável, proteína e aminoácidos. Nesse contexto, a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos garantiu que as variáveis percentuais de postura, peso do ovo, a massa de ovo e a conversão alimentar não variassem de forma significativa entre os tratamentos.

A ausência de efeitos significativos para ácidos orgânicos (KAYA et al, 2013; SANTOS, 2014; CRUZ, 2015; VASCONCELOS et al., 2016) ou extratos vegetais utilizados na alimentação de frangos (FREITAS et al., 2012; DE MELO et al., 2020) e poedeiras (ÖZEK et al., 2011; BOZKURT et al., 2012) sobre o desempenho é comum e pode ser vista como um indicador de que estes não interferiram no aproveitamento dos nutrientes da dieta, permitindo a manutenção da flora benéfica do trato digestivo, excluindo-se assim a possibilidade de efeitos tóxicos de tais aditivos (VASCONCELOS et al., 2016).

No entanto, outras pesquisas vêm demonstrando efeitos benéficos (GAMA et al., 2000; SOLTAN, 2008; BONATO et al., 2008; YOUSSEF et al., 2013) na utilização de aditivos na ração de aves. A divergência apresentada, na literatura, nos resultados deve-se às diferentes características dos ácidos orgânicos existentes e a necessidade de se adequar a dose de cada ácido ou a mistura deles frente à diversidade de condições que se apresentam nas criações de aves (BRAZ, 2015).

Por outro lado, é importante destacar que a ausência de efeitos do tratamento controle sobre o desempenho das aves é um indicativo 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 essa mistura de ácidos e sua ação biológica benéfica.

Desenvolvimento de órgãos e pH do trato

Os resultados médios do desenvolvimento dos órgãos de poedeiras alimentadas com ração contendo anacardato de cálcio e sua associação com o ácido cítrico, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Peso relativo dos órgãos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.

Tratamentos	Moela (%)	Fígado (%)	Intest ⁵ (%)	Cecos (%)	Reprod ⁶ (%)
Ração sem antioxidantes	1,18	2,13	2,53	0,41	7,85
0,25% de ANC ¹	1,19	2,37	2,48	0,37	7,41
0,25% de ANC + 0,25% AC ²	1,25	2,27	2,53	0,37	6,18
0,50% de ANC	1,85	2,39	2,59	0,40	6,91
0,50% de ANC + 0,25% AC	1,27	2,22	2,48	0,40	7,16
0,50% de ANC +0,50% AC	1,17	2,18	2,50	0,36	7,13
0,75% de ANC	1,24	2,20	2,38	0,35	7,54
0,75% de ANC +0,25% AC	1,28	2,26	2,56	0,39	7,17
0,75% de ANC +0,50% AC	1,21	2,30	2,44	0,37	7,02
Média	1,24	2,30	2,55	0,39	7,41
EPM ³ (%)	0,0122	0,024	0,0251	0,0063	0,0932
Efeito estatístico	<i>p-valor</i>				
ANOVA ⁴	0,2033	0,1566	0,7258	0,3077	0,2005

ANC¹- Anacardato de cálcio; AC²- Ácido cítrico; EPM³- Erro padrão da média (P<0,05); ANOVA⁴- Análise de variância. Intest⁵- Intestino; Reprod⁶- Sistema reprodutivo.

De acordo com os resultados, a utilização do anacardato de cálcio e sua associação com o ácido cítrico como aditivos para poedeiras no período de 63 a 75 semanas de idade não influenciou (P>0,05) o peso relativo da moela, fígado, intestino, cecos e sistema reprodutor. A ausência de efeito sobre a morfometria intestinal indica que a utilização isolada ou combinada dos ácidos não comprometeu o desenvolvimento e funcionamento saudável do trato gastrointestinal.

O anacardato de cálcio utilizado nesse estudo apresenta importantes teores de compostos fenólicos. Entre eles, está presente o ácido anacárdico (TREVISAN et al., 2006) que é um lipídeo fenólicos não-isoprenóide, no qual algumas atividades farmacológicas encontram-se descritas na literatura, dentre elas habilidade de inibir algumas enzimas (GRAZZINI et al., 1991; TOYOMIZU et al., 1993; KUBO et al., 1994; SUNG et al., 2008)

que têm função de impedir danos oxidativos na mitocôndria do fígado (TOYOMIZU et al., 2000), além de apresentar semelhanças com o ácido acetil salicílico, podendo possuir atividades analgésicas, anti-inflamatórias e atividade gastroprotetora (MORAIS et al., 2010), principalmente por meio de um mecanismo antioxidante, que poderia alterar o peso dos órgãos do trato gastrointestinal e reprodutivo das aves.

O ácido cítrico utilizado na dieta das aves também não alterou o peso relativo dos órgãos avaliados. Isso indica que o uso de aditivos ácidos não causou sobrecarga dos órgãos das aves. Sendo o fígado o órgão responsável pela detoxificação de substâncias nocivas ao organismo, evidenciou-se que doses isoladas ou combinadas de anacardato cálcio com ácido cítrico podem ser adicionadas à dieta das aves sem lhes causar danos.

Nesse contexto, a ausência de diferença significativa para o peso relativo dos órgãos, juntamente com a não influência significativa sobre o desempenho das poedeiras, demonstram que as aves não foram prejudicadas pela utilização dos ácidos na dieta. Corroborando com resultados encontrados por Hernandez et al. (2004) e Cabuk et al. (2006) que, ao trabalharem com mistura de óleos essenciais para frangos de corte, não encontraram diferenças significativas destes sobre o peso do proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos.

Os resultados médios do pH do conteúdo de cada segmento do trato gastrointestinal de poedeiras que consumiram ração contendo anacardato de cálcio e sua associação com o ácido cítrico, no período de 63 a 75 semanas de idade, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. pH do conteúdo dos órgãos do trato gastrointestinal de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.

Tratamentos	Papo	Moela	Duodeno	Jejuno	Íleo	Cecos
Ração sem antioxidantes	4,29	4,38	6,05	5,87	6,73	6,88
0,25% de ANC ¹	4,48	4,47	6,13	5,93	6,72	6,84
0,25% de ANC + 0,25% AC ²	4,40	4,54	6,14	5,93	6,72	6,83
0,50% de ANC	4,56	4,53	6,11	5,94	6,45	6,67
0,50% de ANC + 0,25% AC	4,34	4,38	6,13	5,79	6,70	6,62
0,50% de ANC + 0,50% AC	4,53	4,59	6,12	5,86	6,65	6,80
0,75% de ANC	4,43	4,38	6,04	5,81	6,48	6,60
0,75% de ANC + 0,25% AC	4,38	4,44	6,02	5,78	6,48	6,75
0,75% de ANC + 0,50% AC	4,36	4,57	6,02	5,73	6,45	6,61
Média	4,47	4,58	6,11	5,90	6,68	6,79
EPM ³ (%)	0,0244	0,0240	0,0127	0,0239	0,0377	0,0301
Efeito estatístico	<i>p-valor</i>					
ANOVA ⁴	0,1701	0,2019	0,0532	0,3302	0,2452	0,1585

ANC¹- Anacardato de cálcio; AC²- Ácido cítrico; EPM³- Erro padrão da média (P<0,05); ANOVA⁴- Análise de variância.

Não houve diferença significativa (P>0,05) entre os tratamentos avaliados para os valores de pH do papo, moela, duodeno, jejuno, íleo e cecos das poedeiras (Tabela 5). Dessa

maneira, pode-se inferir que as adições dos ácidos, nos diferentes níveis, não proporcionaram alterações no conteúdo do trato gastrointestinal das aves.

Diferente do que se tem visto para os ácidos orgânicos, uma redução do pH era esperada, uma vez que estas substâncias têm essa ação como resposta primária (PARTANEN E MROZ, 1999). Todavia, o ácido cítrico pode não ter sido suficiente para acidificar o meio necessário para que o anacardato de cálcio atingisse o pKa para liberação do seu princípio ativo ou ainda que os altos níveis de cálcio nas dietas das galinhas poedeiras podem ter interferido o pH no intestino em direção à alcalinidade (NEZHAD et al., 2007), reduzindo assim sua eficácia por apresentar efeito tamponante que dificulta a ação dos ácidos orgânicos no lúmen intestinal (SUIRYANRAYNA e RAMANA 2015).

Qualidade interna e externa dos ovos

Para os resultados médios de porcentagem de gema, albúmen e casca, densidade específica, unidades Haugh, espessura da casca, cor e TBARS dos ovos de poedeiras alimentadas com ração contendo anacardato de cálcio e sua associação com o ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.

Tabela 6. Característica e qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.

Tratamentos	⁵ GE (%)	⁶ AL (%)	⁷ CS (%)	⁸ DE (g/cm ³)	⁹ UH	¹⁰ EC (mm)	¹¹ CG (1-16)	TBARS (mg de MDA /kg de gema)
Ração sem antioxidantes	26,76	64,95	8,43	1,08	87,03	0,33	8,33d	2,76a
0,25% de ANC ¹	26,78	64,85	8,62	1,08	85,63	0,34	8,37d	2,71a
0,25% de ANC + 0,25%AC ²	26,99	64,73	8,48	1,08	87,14	0,34	8,47cb	2,44abc
0,50% de ANC	27,07	64,57	8,66	1,08	85,72	0,34	8,48cb	2,18c
0,50% de ANC + 0,25%AC	27,21	64,60	8,57	1,08	86,14	0,34	8,54b	2,25b
0,50% de ANC +0,50%AC	26,83	64,71	8,74	1,08	85,95	0,35	8,59b	2,27bc
0,75% de ANC	27,25	64,44	8,69	1,08	85,86	0,35	8,70a	2,10c
0,75% de ANC +0,25%AC	27,03	64,60	8,58	1,08	87,03	0,35	8,71a	2,56ab
0,75% de ANC +0,50%AC	26,84	64,84	8,66	1,08	86,70	0,35	8,76a	2,69a
MÉDIA	26,97	64,70	8,60	1,08	86,36	0,34	8,55	2,44
EPM³ (%)	0,0841	0,0981	0,0327	0,0002	0,1534	0,0013	0,0221	0,0461
Efeito Estatístico	<i>p-valor</i>							
ANOVA⁴	0,8730	0,9734	0,4272	0,2433	0,0569	0,1341	<.0001	<.0001

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si, pelo teste SNK, a 5% de probabilidade; ANC¹- Anacardato de cálcio; AC²- Ácido cítrico; EPM³- Erro padrão da média (P<0,05); ANOVA⁴- Análise de variância; ⁵GE- Gema; ⁶AL- Albúmen; ⁷CS-Casca; ⁸DE- densidade específica; ⁹UH- Unidades Haugh; ¹⁰EC- Espessura da casca; ¹¹CG- Cor da gema.

Não foi observado efeito ($P>0,05$) dos tratamentos sobre características: proporção de gema, albúmen e casca, densidade específica, valores de unidades Haugh e espessura da casca dos ovos (Tabela 6).

Do ponto de vista da nutrição, em condições normais, para se obter ovos de qualidade interna e externa satisfatória, é necessário que as aves recebam os nutrientes em quantidades suficientes para atender aos processos metabólicos envolvidos na formação dos ovos. Assim, prioritariamente, os ácidos graxos essenciais serão fundamentais para formação da gema, proteína e aminoácidos para formação do albúmen (COSTA et al., 2004) e os minerais para formação da casca (ŚWIAŃKIEWICZ et al., 2010).

Uma deficiência desses nutrientes pode afetar a proporção e qualidade dos constituintes dos ovos. Nesse contexto, a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos para os constituintes e qualidade dos ovos pode ser relacionada ao atendimento das exigências das aves, visto que as rações foram formuladas para serem isonutritivas e não houve variação significativa no consumo de ração

Por outro lado, podemos observar que a variável cor da gema e TBARS apresentaram efeito significativo ($P<0,05$). A gema apresentou maior pigmentação para os tratamentos com 0,75% de anacardato de cálcio e suas associações com o ácido cítrico (0,25 e 0,50) e inferior para tratamento controle e inclusão de 0,25% de ANC.

Mesmo que a intensidade da pigmentação da gema não seja um indicador do valor nutricional do ovo, pode muito bem constituir um fator atraente em termos de preferências dos consumidores, uma vez que afeta a percepção ao associarem a cor da gema à idade e ao estado de saúde do animal e à qualidade dos ovos, afetando assim a decisão de compra (LOETSCHER et al., 2013).

Os compostos fenólicos representam um dos grupos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal e incluem a maioria das substâncias responsáveis pelo sabor, odor e cor característicos de frutas, folhas, sementes (IGNAT, VOLF E POPA, 2011), podendo esse grupo de substâncias ser responsável pela alteração na cor das gemas. Esse resultado corrobora com dados observados por Braz et al. (2019), que também observaram melhora na coloração da gema com a utilização de líquido da castanha de caju (LCC) na ração de poedeiras.

Outros autores como Kaya et al. (2014) também observaram melhora na cor da gema do ovo ao utilizar 0,2% de ácido cítrico na dieta de poedeiras, evidenciando a melhor pigmentação ao aumento na absorção de carotenóides do milho, juntamente com a diminuição do pH nos lúmens intestinais pela suplementação de ácidos orgânicos na dieta das aves.

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 (LEE et al., 2011). Assim, a atividade antioxidante do anacardato de cálcio e sua associação com o ácido cítrico à resposta da estabilidade dos lipídeos da gema apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$).

Os valores de concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em ovos frescos podem ser decorrentes da ingestão dessas substâncias com atividade antioxidante presentes na ração e da posterior transferência para a gema ou, ainda, resultante da produção endógena das poedeiras (FERNANDES, 2017), sendo essa uma das respostas frequentemente relatadas na literatura (ZHAO *et al.*, 2011), na qual a adição de antioxidantes naturais beneficia a qualidade dos ovos, principalmente, na proteção contra a oxidação dos lipídeos da gema.

Os resultados observados sobre a oxidação lipídica da gema na presente pesquisa estão de acordo com a literatura, visto que os benefícios da ação antioxidante do ácido anacárdico na gema dos ovos têm sido demonstrados por outros pesquisadores com a adição do LCC na ração de postura (ABREU et al., 2017; BRAZ et al., 2019), da mesma forma que sua ação pró-oxidante, quando o ANC foi adicionado em dose superior a 0,75% na ração de frangos de corte (ABREU et al., 2019). Reduções na oxidação lipídica dos ovos de matrizes de frangos de corte foram relatadas com a adição de outros compostos com ação antioxidante na ração, como a cantaxantina (ZHANG et al., 2018).

Embora os resultados indiquem que o uso de doses isoladas do ANC e suas associações com o AC na dieta não foram capazes de melhorar o desempenho, desenvolvimento de órgãos, pH e parâmetros de qualidade dos ovos das galinhas poedeiras, observou-se efeitos positivos desses ácidos na cor da gema e a estabilidade oxidativa do ovo.

A falta de consistência sobre os efeitos dos aditivos fitogênicos e suas associações sobre o desempenho nos animais demonstram a necessidade de melhor compreensão dos seus mecanismos de ação e dos fatores que interferem no resultado de seu uso para que a expansão na utilização ocorra de forma precisa e racional. Essa inconsistência nos resultados deve-se à falta de controle de variáveis como capacidade tampão dos ingredientes da dieta, presença de antimicrobianos nas rações, condição sanitária do ambiente, heterogeneidade da microbiota intestinal e resistência dos microrganismos à substâncias químicas estressantes, como os ácidos orgânicos.

CONCLUSÃO

A inclusão de anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico na ração para poedeiras comerciais leves não influencia os parâmetros de desempenho das aves e qualidade dos ovos, à exceção da pigmentação e oxidação lipídica das gemas, em que a adição de 0,75% de ACN, isolada ou associada com 0,25 ou 0,50 de AC, promove aumento da pigmentação da gema. A utilização de 0,75% de ANC na sua forma isolada reduz a oxidação lipídica da gema; todavia a associação desse nível com 0,50% de AC tem efeito pró-oxidante

4. PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE ÓRGÃOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM ANACARDATO DE CÁLCIO E SUA ASSOCIAÇÃO COM O ÁCIDO CÍTRICO.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão do anacardato de cálcio (ANC), associado ou não ao ácido cítrico (AC), na ração de poedeiras sobre o perfil bioquímico sérico, peroxidação lipídica do soro, bem como a atividade enzimática e peroxidação lipídica no fígado e tecidos do sistema reprodutor (ovário, magno e útero). Para isso, foram analisadas as amostras coletadas em ensaio com 432 poedeiras da linhagem comercial *Hy-Line W-36*, com 63 semanas de idade, que foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com nove tratamentos e seis repetições. Os tratamentos consistiram em: T1 – ração sem adição de aditivos ácidos; T2 – ração com adição de 0,25% de ANC; T3 – ração com 0,25% de ANC associado a 0,25% de AC; T4 – ração com 0,50% de ANC; T5 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,25% de AC; T6 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,50% de AC; T7 – ração com 0,75% de ANC; T8 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,25% de AC; T9 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,50% de AC. Não houve efeito significativo dos tratamentos nas variáveis avaliadas no perfil bioquímico sérico; contudo, houve efeito significativo na oxidação lipídica do soro, obtendo-se menor concentração de MDA no soro das aves que consumiram ração com dose isolada de ANC (0,75%) e associação com AC, (0,50% de ANC +0,50% de AC). Para atividade enzimática nos órgãos, observou-se efeito significativo dos tratamentos na atividade da enzima catalase no fígado e magno, em que as aves dos tratamentos que receberam doses de ANC isolada (0,50% e 0,75%) ou associadas ao AC (0,25% e 0,50%) apresentaram menor atividade da enzima no fígado e maior atividade no magno. Para a enzima superóxido dismutase, observou-se efeito significativo dos tratamentos na atividade da enzima no ovário, magno e útero. No ovário, observou-se maior atividade para as aves alimentadas com ração sem adição de antioxidantes e 0,25% de ANC e menor para aves dos tratamentos 0,50% de ANC associado a 0,25 e 0,50% de AC e 0,75% de ANC isolado ou associado a 0,25 e 0,50% AC. No magno e útero, a atividade da enzima foi semelhante, observando-se valores elevados para aves que consumiram ração sem adição de antioxidantes, seguidos das aves dos tratamentos 0,25% de ANC associado a 0,25% de AC e menores valores para aves alimentadas com 0,50% de ANC (0,25 e 0,50% de AC) e 0,75% de ANC (0; 0,25 e 0,50% de AC). A inclusão de ANC e sua associação com AC na ração para poedeiras comerciais leves não influenciou nos parâmetros bioquímicos séricos com exceção da oxidação

lipídica do soro, podendo-se incluir 0,75% ANC ou 0,50% de ANC em associação com 0,50% de AC na ração para obter menor oxidação. A adição isolada de ANC no nível de 0,75% apresenta melhor atividade antioxidante nos tecidos do fígado e sistema reprodutivo de poedeiras.

Palavras-chave: Antioxidante natural, *Anacardium occidentale L*, Catalase, Peroxidação lipídica, Superóxido dismutase.

SERUM BIOCHEMICAL PROFILE AND ENZYMATIC ACTIVITY OF ORGANS OF LAYERS FED WITH CALCIUM ANACARDATE AND ITS ASSOCIATION WITH CITRIC ACID.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the inclusion of calcium anacardate (ANC) associated or not with citric acid (AC) in laying hens' diets on the serum biochemical profile, serum lipid peroxidation as well as enzymatic activity and lipid peroxidation of the liver and tissues of the reproductive system (ovary, magnum and uterus). A total of 432 laying hens of the commercial line Hy-Line W-36 with 63 weeks of age were distributed in a completely randomized design, with nine treatments and six replications. The treatments consisted of: T1 – ration without addition of acid additives; T2 – ration with the addition of 0.25% of ANC; T3 – diet with 0.25% ANC associated with 0.25% AC; T4 – ration with 0.50% of ANC; T5 – diet with 0.50% ANC associated with 0.25% AC; T6 – diet with 0.50% ANC associated with 0.50% AC; T7 – ration with 0.75% of ANC; T8 – diet with 0.75% ANC associated with 0.25% AC; T9 – diet with 0.75% ANC associated with 0.50% AC. There was no significant effect of diet on the variables Cr, ALT, AST, COL.Total, TAG, however, for concentrations of MDA in the serum of birds that consumed feed with isolated doses of ANC (0.75%) and association with AC (0.50% ANC + 0.50% AC) lower concentrations of the compound were observed. For enzymatic activity in the organs, a significant effect of the treatments was observed in the variables CAT of the liver and Magno where the birds of the treatments that received doses of ANC alone (0.50% and 0.75%) or associated with AC (0.25% and 0.50%) showed lower enzyme activity in the liver and higher enzyme activities in the magnum. For SOD, there was a significant effect of treatments on ovary, magnum and uterus tissues, birds fed with ration without addition of antioxidants and 0.25% of ANC had higher enzyme values in the ovary and lower concentrations for birds from treatments 0.50% ANC associated with 0.25 and 0.50% AC and 0.75% ANC (0.25 and 0.50% AC). In the magno showed higher values for birds that consumed feed without the addition of antioxidants, followed by a reduction in the values for birds of treatments with antioxidant use. The enzyme activity in the uterus was similar to the responses found in the magnum, high values for birds that consumed feed without the addition of antioxidants, followed by the birds of the treatments 0.25% ANC associated with 0.25% AC and lower values for birds fed 0.50% ANC (0.25 and 0.50% AC) and 0.75% ANC (0.25 and 0.50% AC). The inclusion of ANC and its association with AC in the diet for light commercial laying hens does not influence the serum biochemical parameters, with the exception of serum lipid oxidation, which may include

0.75% ANC or 0.50% ANC in association with 0.50 % of AC in the ration to obtain less oxidation. The isolated addition of ANC at the level of 0.75% shows better antioxidant activity in the liver tissues and reproductive system of laying hens from peak production

Keywords: *Anacardium occidentale L*, Catalase, Lipid peroxidation, Natural antioxidante, Superoxide dismutase.

INTRODUÇÃO

Há uma preocupação com as poedeiras comerciais, a partir do pico de produção, por estarem mais propensas a distúrbios metabólicos e, conseqüentemente, mais suscetíveis aos danos causados pelos radicais livres em comparação com animais mais jovens devido ao intenso metabolismo demandado (ZOU et al., 2007). A falta de antioxidantes suficientes para eliminar os radicais livres levará ao dano oxidativo, afetando negativamente o funcionamento adequado de alguns órgãos, causando desequilíbrio nas funções fisiológicas, resultando em baixo desempenho produtivo (CUI et al., 2012; LEE et al., 2017).

Para o alívio do estresse ocasionado por essa fase, a modulação da resposta imune tem sido de grande interesse dos pesquisadores (OZEK et al., 2011; MAHIMA et al., 2012), uma vez que o envelhecimento das aves ocasiona diminuição gradativa da produção de ovos e a qualidade de casca, aumentando as chances de sofrerem problemas ósseos, como a osteoporose, por exemplo, causada pelo desgaste das reservas de cálcio.

Estudos têm demonstrado que algumas fontes vegetais ricas em compostos fenólicos, quando adicionadas à dieta, possuem atividade antioxidante, anti-inflamatória e imunomoduladora. Isso é um dos principais objetivos do uso destes compostos como aditivos alimentares em dietas de animais quando se busca melhoria do desempenho através da redução dos efeitos negativos causados pelo estresse oxidativo (BOTSOGLOU et al., 2012).

Os compostos fenólicos podem melhorar a saúde intestinal através do aumento da função duodenal e a absorção de nutrientes, promovendo um maior estado imunológico (LIPÍŃSKI et al., 2017), além de aumentar a expressão de enzimas antioxidantes, que são capazes de reduzir as inflamações (RUBIO et al., 2013), uma vez a ovulação compartilha muitas características com o processo inflamatório (DUFFY et al., 2019).

O ácido anacárdico, composto fenólico naturalmente encontrado em maior proporção no líquido da casca da castanha de caju, vem sendo estudado há algum tempo com resultados positivos no controle de diversos agentes infecciosos (KUBO et al., 2003; NARASIMHAN et al., 2008) e uma série de atividades biológicas, incluindo a atividade antioxidante (CORREIA, DAVID, E DAVID, 2006; TREVISAN et al., 2006).

Pesquisas recentes com ácido anacárdico como promotor de crescimento em aves, quando administrado na alimentação na forma de anacardato de cálcio, têm demonstrado alguns efeitos nos diferentes períodos de produção, mas sem impacto quando se considera o ciclo completo (SANTOS, 2014; CRUZ, 2015). Porém, ao utilizar rações com até 1% de anacardato de cálcio para de frangos de corte, Cruz et al. (2019) relacionaram a ausência de

efeito em sua adição sobre os parâmetros ósseos de frangos de corte ao comprometimento da sua hidrólise e, conseqüentemente, da liberação do ácido anacárdico em pH normal do trato digestório das aves, uma vez que os compostos fenólicos têm natureza lipofílica, limitando assim seu uso e a eficiência de sua distribuição no intestino. Tais problemas podem ser resolvidos por micro encapsulamento e ou combinação com outros compostos (YANG et al., 2015).

Nesse contexto, a utilização do anacardato de cálcio, combinado ao um ácido orgânico, seria uma alternativa interessante para potencializar o desempenho do composto fenólico, por meio da dissociação do ácido anacárdico durante o processo digestivo, permitindo que este, em sua forma livre, atue como antioxidante.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de anacardato de cálcio e sua associação ao ácido cítrico na alimentação de poedeiras leves sobre os parâmetros sanguíneos sérico, atividade enzimática e o estado oxidativo do soro, fígado e sistema reprodutivo.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do líquido da casca da castanha de caju e preparação do anacardato de cálcio

O resíduo da castanha de caju foi adquirido no município de Pacajus-Ce, Brasil, em uma empresa de beneficiamento do fruto. Após a aquisição, as cascas da amêndoa torradas de caju foram trituradas em picador forrageiro (GTI-2000LDF) e acondicionadas em recipientes de vidro. Ali permaneceram submersas em álcool etílico 99,5° GL na proporção de 1:1, por um período de sete dias, em temperatura ambiente. Em seguida, o material foi peneirado e o solvente foi removido e submetido à evaporação, em evaporador rotativo (MARCONI-MA120/THV), a 50°C, com rotação de 60 rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente e obtenção do LCC, conforme metodologia apresentada por Trevisan et al., (2006).

O processamento do LCC para a preparação do anacardato de cálcio foi realizado no Laboratório de Extração de Produtos Naturais (LAEX), localizado nas instalações do Setor de Avicultura, do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC). A obtenção do anacardato de cálcio foi realizada a partir da separação do ácido anacárdico que estava presente no LCC, por meio da precipitação na forma de anacardato de cálcio, conforme metodologia adaptada de Paramashivappa et al., (2001).

Para obtenção do anacardato de cálcio a partir do LCC, utilizou-se um Becker de 4L onde foram adicionados 550mL de LCC, 150mL de água destilada e 2.850mL de etanol. Essa

solução foi aquecida, sob agitação, até a temperatura de 50°C, permanecendo nessa condição por quatro horas, mantendo-se a temperatura constante. Ao longo do procedimento, em intervalos de dez minutos, foram incorporados à mistura 250g de hidróxido de cálcio. Após as quatro horas de aquecimento e agitação, o ácido anacárdico presente no LCC reagiu com o hidróxido de cálcio, formando o anacardato de cálcio, que se precipitou no fundo do recipiente e foi separado dos demais componentes da mistura.

Para tanto, a solução foi deixada para decantação por uma hora em temperatura ambiente. Em seguida, o sobrenadante foi retirado e adicionou-se 800 mL de etanol e a mistura foi submetida às mesmas condições de agitação e aquecimento por uma hora. Logo em seguida, procedeu-se a decantação por uma hora e retirada do sobrenadante. O precipitado foi levado à estufa de ventilação para secagem.

Quantificação do ácido anacárdico das amostras

Cascas de castanha de caju (*Anacardium occidentale-L*), cortadas em pequenos fragmentos, foram exaustivamente extraídas com aquecimento brando para obtenção de um líquido escuro e cáustico (LCC). Em um Erlenmeyer, foram dissolvidos hidróxido de cálcio em água. A esta solução, mantida sob agitação, foram adicionados o LCC dissolvido em etanol e a mistura será deixada sob forte agitação. O anacardato de cálcio precipitado e sintetizado foi filtrado a vácuo e lavado com etanol. A mistura de 1,1 gramas de anacardato de cálcio foram transferidas para um Erlenmeyer com 3 mL acetato de etila, 8,8 mL água e HCl P.A. (1,2 mL) e a mistura foi mantida sob vigorosa agitação durante uma h. Ela foi filtrada em funil de Büchner e o filtrado foi transferido para um funil de separação. Em seguida, foi realizada uma partição líquida – líquido com acetato de etila (2x 3 mL), obtendo uma fase orgânica rica em ácido anacárdico, que foi posteriormente lavada com água Mili – Q (200 mL) e seca com sulfato de sódio anidro. O extrato foi rotaevaporado para eliminação do solvente e obtenção de uma fração contendo apenas o ácido anacárdico (Paramashivappa et al., 2001). A proporção de ácido anacárdico no anacardato de cálcio deste experimento foi de 66,65%

Experimento com aves

O projeto foi aprovado pela comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFC) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo n° 9616090320. Realizado no Setor de Avicultura/DZ/CCA/UFC, em um galpão convencional para criação de poedeiras, em gaiolas de arame galvanizado (25 x 40 x 45 cm) com capacidade para duas aves por gaiola. Para a

condução do experimento foram alojadas 432 poedeiras da linhagem comercial *Hy-Line W-36*, com 63 semanas de idade. Essas aves foram selecionadas com base no peso ($1,44 \pm 0,100$ kg) e produção de ovos (80% de postura) e distribuídas uniformemente nas gaiolas, de modo que todas as repetições passem a conter aves com pesos e produção de ovos similares, conforme recomendações de Sakomura e Rostagno (2007). Durante o período experimental, os dados de temperatura e de umidade relativa média do ar foram coletados no início da manhã (08h) e no final da tarde (16h), sendo as médias de temperatura ambiente máxima/mínima e umidade relativa do ar no galpão, durante o período experimental de 26,54/32,8 °C e 73/80%, respectivamente. As temperaturas foram registradas por intermédio de termômetros de máxima/mínima e a umidade relativa do ar, por meio de termohigrômetro.

Delineamento, tratamentos e rações experimentais

As aves foram distribuídas nas gaiolas ao acaso, composto por nove tratamentos e seis repetições de oito aves cada. Os tratamentos consistiram em: T1 – ração sem adição de aditivos ácidos; T2 – ração com adição de 0,25% de ANC; T3 – ração com 0,25% de ANC associado a 0,25% de AC; T4 – ração com 0,50% de ANC; T5 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,25% de AC; T6 – ração com 0,50% de ANC associado a 0,50% de AC; T7 – ração com 0,75% de ANC; T8 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,25% de AC; T9 – ração com 0,75% de ANC associado a 0,50% de AC.

Para obtenção da ração experimental de cada tratamento (Tabela 7), formulou-se a ração controle, de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo manual da linhagem (*HY-LINE INTERNACIONAL, 2016*) e foram considerados os valores nutricionais dos ingredientes (milho, farelo de soja e óleo) apresentados por Rostagno et al. (2017), sendo as demais obtidas pela substituição do inerte de acordo com a inclusão do anacardato de cálcio e ácido cítrico na proporção de cada tratamento.

Tabela 7. Composição percentual e nutricional calculada da ração controle utilizada para poedeiras leves.

Ingredientes	Quantidades (%)
Milho	62,30
Farelo de soja	22,00
Calcário	9,95
Óleo de soja	2,26
Fosfato bicálcico	1,53
DL-Metionina	0,14
L-Lisina	0,02
Suplemento vitamínico ¹	0,10
Suplemento mineral ²	0,05
Sal comum	0,41
Inerte ³	1,25
Total	100,00
Composição nutricional calculada	
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	2.800
Proteína bruta (%)	15,00
Matéria seca (%)	89,60
Cálcio (%)	4,35
Fósforo digestível (%)	0,37
Lisina digestível (%)	0,69
Metionina +cistina digestível (%)	0,62
Metionina digestível (%)	0,37
Triptofano digestível (%)	0,58
Sódio (%)	0,18

¹Composição por kg de produto: Vit. A – 9.000.000,00 UI; Vit. D3 – 2.500.000,00 UI; Vit. E – 20.000,00 mg; Vit. K3 – 2.500,00 mg; Vit. B1 – 2.000,00 mg; Vit. B2 – 6.000,00 mg; Vit. B12 – 15,00 mg; Niacina – 35.000,00 mg; ácido pantotênico – 12.000,00 mg; Vit. B6 – 8.000,00 mg; ácido fólico – 1.500,00 mg; Selênio – 250,00 mg; Biotina – 100,00 mg. ²Composição por Kg do produto: Ferro – 100.000,00 mg; Cobre – 20,00 g; Manganês – 130.000,00 mg; Zinco – 130.000,10 mg; Iodo – 2.000,00 mg; ³Inerte: Areia lavada.

Avaliação dos efeitos fisiológicos

Para avaliar os efeitos fisiológicos do uso do anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico na alimentação das aves foram realizados exames sorológicos, nos quais foram avaliados os parâmetros bioquímicos e oxidação lipídica (TBARS).

A influência das rações sobre a atividade de enzimas relacionadas à proteção das aves contra o estresse oxidativo foi avaliada com as determinações da atividade da enzima superóxido dismutase e catalase no fígado e sistema reprodutivo (ovário, magno e útero).

Para isso, foram selecionadas duas aves de cada repetição, num total de 108 aves, no final do período experimental (75 semanas) para a coleta de sangue e dos órgãos que foram utilizados para a realização das análises.

Perfil bioquímicos sérico

Para a realização das análises bioquímicas do sangue, uma outra amostra de sangue foi colhida por punção cardíaca, colocada em tubos apropriados e deixados em temperatura

ambiente para coagulação e posterior centrifugação a 3.000 rpm por 15 minutos. Após a centrifugação, foi retirado o sobrenadante (soro), sendo cada amostra dividida para que cada alíquota fosse acondicionada e, posteriormente, utilizada nas respectivas determinações.

Em uma parte do soro foram dosados: ácido úrico, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicerídeos, creatinina, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Essas investigações bioquímicas foram realizadas pelo método de automação (Metrolab 2300 plus) com kits cinéticos da Weiner, conforme instruções do fabricante.

Peroxidação lipídica no sangue

Foi determinada por estimação do malonaldeído (MDA), segundo metodologia descrita por Draper e Hadley (1990), no qual foram adicionados, em tubos de vidro, 250µL de soro seguido por 400µL de ácido perclórico a 35% e aquecido em banho de água quente por uma hora (37°C). A mistura foi centrifugada (1400 g por 10 minutos) e, em seguida, foram retirados 600µL do sobrenadante e adicionados 200µL de ácido tiobarbitúrico (1,2%). Essa mistura foi aquecida em banho de água quente por 30 minutos (95°C). Em seguida, a solução foi resfriada e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Bioscience Ultrospec 6300 PRO) a 535 nm. A curva padrão foi obtida usando 1,1,3,3-tetrametoxipropano e os resultados obtidos foram expressos em nmol MDA/mL de soro.

Atividade da enzima superóxido dismutase e catalase nos órgãos

Depois da coleta das amostras de sangue, as aves foram eutanasiadas para a retirada dos órgãos (ovário, magno, útero e fígado), que foram identificados e acondicionados em sacos plásticos resistentes e imediatamente congelados em nitrogênio líquido. Em seguida, os sacos foram armazenados a -80°C até o momento das análises da atividade enzimática relacionada aos processos de oxidação lipídica no organismo.

Preparação dos extratos

Os extratos para determinação da atividade das enzimas antioxidantes e dos teores de proteína solúvel foram preparados a partir de 50mg de amostra resfriada e macerada em nitrogênio líquido com 4,0 mL tampão fosfato de potássio a 0,1 M (pH 7,0), contendo EDTA a 0,1 mM. O homogenato foi centrifugado a 12.000 x g por 15 minutos, a 4 °C e, até o

momento da análise, o sobrenadante armazenado a -25 °C.

Dismutase do Superóxido (SOD)

A atividade da SOD foi determinada de acordo com a metodologia de Beauchamp e Fridovich (1971). A mistura reacional foi composta por tampão fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,8), EDTA a 0,1 mM, metionina a 19,5 mM, nitroblue tetrazolium (NBT) a 75 µM, riboflavina a 10 µM e 50 µL do extrato bruto, em um volume final de 1,5 mL. A reação foi conduzida a 25 °C em uma câmara de reação iluminada com lâmpadas fluorescentes de 20W, por 15 minutos. A atividade enzimática foi expressa por meio do aumento da absorbância em 560 nm, que ocorreu devido a formação de azul de formazan, a partir da fotorredução do NBT. Os resultados foram expressos em unidade de atividade enzimática (quantidade de enzima necessária para causar 50% de inibição da fotorredução do NBT em 15 minutos) por µg de proteína e representam a média de quatro repetições, sendo cada extrato dosado em duplicata.

Catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada segundo o método descrito por Havir e McHale (1987). O meio de reação foi constituído por tampão fosfato de potássio a 0,1 M (pH 7,0), EDTA a 0,1 mM, H₂O₂ a 0,5 M e 150 µL de extrato bruto convenientemente diluído, em um volume final de 1,5 mL. A atividade foi determinada pelo decréscimo na absorbância em 240 nm, devido ao consumo de H₂O₂. Os resultados foram expressos em nmol/µg de proteína e representam a média de quatro repetições, sendo cada extrato dosado em duplicata.

Proteínas solúveis

As proteínas solúveis foram determinadas de acordo com o método descrito por Bradford (1976), utilizando-se o reagente azul de coomassie. Para 1,0 L deste reagente, dissolveram-se 100 mg de Coomassie Brilliant Blue G-250 (Sigma Chemical Company) em 50 mL de etanol a 95%, acrescidos de 100 mL de ácido fosfórico a 85%. O volume final da solução foi completado com água deionizada. A uma alíquota de 0,1 mL do extrato convenientemente diluído, foi adicionado 1,0 mL do reagente de coomassie. A mistura foi deixada em repouso por 15 minutos, sendo então submetida à leitura de absorbância em espectrofotômetro (Bioscience Ultrospec 6300 PRO) a 595 nm. Como padrão, foi utilizada a albumina de soro bovina. Os resultados dos teores de proteínas solúveis foram expressos em mg g⁻¹ MF. Os resultados representaram a média de quatro repetições, sendo cada extrato

dosado em duplicata.

Análise estatística dos dados

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o *Statistical Analyses System* (SAS, 2000). Os dados obtidos para perfil bioquímico sérico, peroxidação lipídica do soro, bem como atividade enzimática e peroxidação lipídica do fígado e tecidos do sistema reprodutor (ovário, magno e útero), foram analisados pelo procedimento ANOVA do SAS, segundo um modelo inteiramente casualizado, sendo as médias comparadas pelo teste SNK a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bioquímica e peroxidação lipídica do sangue

Os valores médios de creatinina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), colesterol total (Col.Total), triglicerídeos (TAG) e peroxidação lipídica do sangue (TBARS) de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico, no período de 63 a 75 semanas de idade, estão apresentadas na tabela 8.

Tabela 8. Parâmetros bioquímicas e peroxidação lipídica do sangue de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.

Tratamentos	⁵ Cr (mg/dL)	⁶ ALT (U/L)	⁷ AST (mg/dL)	⁸ Col.Total (mg/dL)	⁹ TAG (mg/dL)	TBARS (nmol MDA/mL de soro)
Ração sem antioxidantes	1,11	25,00	273,33	149,50	172,33	4,11a
0,25% de ANC ¹	1,36	22,83	276,00	153,83	252,32	4,01b
0,25% de ANC + 0,25% AC ²	1,12	21,00	263,83	162,17	147,92	3,65bc
0,50% de ANC	1,41	19,33	246,83	166,33	155,03	3,57bc
0,50% de ANC + 0,25% AC	1,42	22,16	277,33	151,33	164,77	3,52c
0,50% de ANC + 0,50% AC	1,37	21,00	270,17	147,83	169,12	2,72d
0,75% de ANC	1,44	24,16	263,17	149,00	159,33	2,95d
0,75% de ANC + 0,25% AC	1,34	24,16	249,33	161,17	162,83	3,95abc
0,75% de ANC + 0,50% AC	1,30	28,33	258,17	154,50	159,02	3,95abc
Média	1,38	24,97	274,89	161,17	166,53	3,60
EPM ³ (%)	0,032	0,927	5,311	3,040	3,111	0,084
Efeito Estatístico	<i>p-valor</i>					
ANOVA ⁴	0,1268	0,5155	0,8860	0,8599	0,7084	<.0001

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si, pelo teste SNK, a 5% de probabilidade; ANC¹- Anacardato de cálcio; AC²- Ácido cítrico; EPM³- Erro padrão da média (P<0,05); ANOVA⁴- Análise de variância, ⁵Cr-Creatinina; ⁶ALT-Alanina aminotransferase; ⁷AST-Aspartato aminotransferase; ⁸Col. Total-Colesterol total; ⁹TAG-triglicerídeos.

Na avaliação do perfil bioquímico do sangue, observou-se que os valores de creatina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, colesterol total e triglicerídeos não

foram influenciados significativamente ($P > 0,05$) pelos tratamentos. Contudo, para oxidação lipídica no soro, houve diferença significativa e, conforme os resultados, a oxidação lipídica no soro determinada para as aves alimentadas com 0,50% de ANC, associado a 0,50% AC e 0,75% de ANC, não diferiu entre si e foi significativamente menor em relação a determinadas para os demais tratamentos. Por sua vez, aves alimentadas com a ração controle apresentaram os maiores valores de TBARS, havendo redução nos valores com adição de ANC isolado até o nível de 0,75% ou em associação 0,50 ANC com 0,50% de AC. Todavia, os valores de TBARS apresentaram aumento com o uso de 0,75% ANC associado com 0,25% ou 0,50%, não havendo diferença significativa dos resultados obtidos em relação ao das aves alimentadas com a ração controle.

O perfil bioquímico sérico é um importante indicativo do estado fisiológico, patológico e nutricional aos quais os animais foram submetidos (MINAFRA et al., 2010; JIWUBA et al., 2016; UCHEGBU et al., 2017), podendo assim ser usados como indicativos do desempenho produtivo das aves e doenças metabólicas (ROTAVA et al., 2008). A creatinina é um subproduto da degradação da fosfocreatina no músculo esquelético e é considerada um importante índice do metabolismo proteico e da função renal (PIOTROWSK, BURLIKOWSK, E SZYMECZK, 2011). Como os níveis sanguíneos de creatinina das aves não foram influenciados pela inclusão isolada do anacardato de cálcio e suas associações com o ácido cítrico na dieta, pode-se inferir que não houve um comprometimento das funções renais (KONAN et al., 2007).

A concentração sérica de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) indicam, indiretamente, o estado de saúde do fígado (SON et al., 2014). Essas enzimas estão presentes nos hepatócitos e, quando se encontram elevadas no soro, significa que ocorreu algum dano ao tecido. Logo, como não se observou alterações nas atividades das enzimas AST e ALT, podemos concluir que as funções hepáticas também não foram comprometidas, uma vez que essas enzimas são importantes marcadores fisiológicos de dano celular no tecido hepático (GEORGAKOULI et al., 2015).

Os resultados obtidos no presente estudo concordam com aqueles relatados por Toyomizu et al. (2003) e Cruz et al. (2018) que, ao suplementarem a dieta de ratos com (0,1%) de ácido anacárdico e frango de corte com níveis (0,25, 0,50, 0,75 e 1%) de anacardato de cálcio, não observaram efeito danoso no perfil bioquímico do sangue dos animais, sugerindo que seria improvável ocorrer a disfunção renal ou hepática por meio de suplementação dietética de ácido anacárdico.

Outros autores, como Nourmohammadi et al. (2010) e Özek et al. (2011), também não

observaram efeitos dos tratamentos nas variáveis bioquímicas do sangue quando utilizaram ácido cítrico na dieta de frangos de corte até um nível de inclusão de 6% e mistura de óleo essencial e ácidos orgânicos na alimentação de galinhas poedeiras, respectivamente.

Baseados nesses resultados, pode-se sugerir que os a inclusão de até 0,75% de ANC e suas associações com o AC (0,25%; 0,50%) nas rações não são tóxicas para as poedeiras no período de 63 a 75 semanas de idade.

O malonaldeído (MDA) é um dos produtos finais da peroxidação lipídica e o nível de MDA pode indicar o grau de peroxidação lipídica no corpo, os quais são diretamente proporcionais ao aumento do estresse oxidativo. Da mesma forma, a diminuição da concentração de MDA no plasma ou tecidos indica a diminuição dessa peroxidação lipídica. (SEVEN et al., 2010; ECHEVERRY et al., 2016).

As características antioxidantes do ácido anacárdico podem ser atribuídas aos compostos fenólicos e flavonóides (CORREIA, DAVID E DAVID, 2006; TREVISAN et al., 2006), que reduzem a peroxidação lipídica por meio de suas propriedades de eliminação de radicais livres, por meio do sistema antioxidante e das habilidades de fornecimento de hidrogênio dos compostos fenólicos. Nesse cenário, observa-se que, melhorando o metabolismo lipídico através do uso de antioxidantes, beneficia-se o status antioxidante do corpo, prevenindo a peroxidação lipídica, com conseqüente melhora na demanda da produção dos ovos em galinhas poedeiras, por meio da lipogênese hepática por estrogênios (QI et al., 2011).

Sugerindo assim que a redução na concentração de MDA sérico nas aves que consumiram ração com doses isoladas do ANC, combinadas ou não com AC, apresentaram efeito antioxidante, sendo eficazes para melhorar a estabilidade lipídica do soro das aves deste estudo.

Atividade das enzimas Catalase e Superóxido dismutase

Os resultados médios para a atividade das enzimas Catalase e Superóxido dismutase do fígado de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico, no período de 63 a 75 semanas de idade, estão apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Atividade da Catalase e Superóxido dismutase do fígado de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo Anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade.

Tratamentos	Catalase (nmol/ μ g de proteína)	Superóxido dismutase (UI/ μ g de proteína)
Ração sem antioxidantes	1,24a	124,55
0,25% de ANC ¹	0,77b	123,95
0,25% de ANC + 0,25% AC ²	0,65bc	115,26
0,50% de ANC	0,66bc	116,57
0,50% de ANC + 0,25% AC	0,66bc	124,08
0,50% de ANC +0,50% AC	0,69bc	119,57
0,75% de ANC	0,67bc	122,85
0,75% de ANC +0,25% AC	0,68bc	124,50
0,75% de ANC +0,50% AC	0,63c	123,86
MÉDIA	0,74	121,60
EPM ³ (%)	0,026	0,965
Efeito Estatístico	<i>p-valor</i>	
ANOVA ⁴	<.0001	0,1043

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si, pelo teste SNK, a 5% de probabilidade; ANC¹- Anacardato de cálcio; AC²- Ácido cítrico; EPM³- Erro padrão da média (P<0,05); ANOVA⁴- Análise de variância,

Conforme os resultados, houve efeito significativo (P<0,05) dos tratamentos sobre a atividade da enzima catalase no fígado; porém o mesmo não foi evidenciado para a superóxido dismutase.

A atividade da catalase no fígado foi maior nas aves alimentadas com a ração controle, diferindo significativamente das alimentadas com os diferentes níveis de inclusão de ANC isolado ou em combinação com AC. Em relação a adição do ANC e AC, observou-se que houve diferença significativa apenas entre o uso de 0,25% ANC isolado em relação ao uso de 0,75% ANC em associação com 0,50% de AC, com maior atividade da catalase no fígado das aves alimentadas com 0,25% ANC.

Os resultados médios para a atividade das enzimas Catalase e Superóxido dismutase no sistema reprodutor de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico, no período de 63 a 75 semanas de idade, encontram-se na Tabela 10.

Para atividade da catalase, houve efeito significativo (P<0,05) dos tratamentos apenas na atividade da enzima no magno, obtendo-se maior atividade nas aves alimentadas com ração contendo doses isoladas de 0,50 ou 0,75% de ANC e suas associações com o 0,25 ou 0,50% de AC e menor atividade para aves alimentadas com ração controle e com 0,25% de ANC isolado ou associado com 0,25% de AC.

Em relação à atividade da SOD, observou-se efeito significativo (P<0,05) dos tratamentos nos tecidos do ovário, magno e útero. A atividade enzimática no ovário apresentou maiores valores para aves alimentadas com ração sem adição de antioxidantes e 0,25% de

ANC, valores intermediários para os tratamentos que consumiram 0,25% de ANC associado a 0,25% de AC e 0,50% de ANC e menores valores para aves que consumiram ração contendo 0,50% de ANC associado a 0,25 e 0,50% de AC e 0,75% de ANC isolado ou associado a 0,25 e 0,50% AC. A atividade da enzima no magno e útero apresentou-se semelhante, com maior atividade para aves que consumiram ração sem adição de antioxidantes, seguidos por ração com 0,25% de ANC associado a 0,25% de AC e baixas para aves alimentadas com 0,50% de ANC, associado a 0,25 e 0,50% de AC e 0,75% de ANC isolado e associado a 0,25 e 0,50% de AC.

Tabela 10. Atividade da Catalase e Superóxido dismutase no sistema reprodutivo de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico no período de 63 a 75 semanas de idade

Tratamentos	Catalase (nmol/ μ g de proteína)		
	Ovário	Magno	Útero
Ração sem antioxidantes	0,03	0,21b	0,07
0,25% de ANC ¹	0,05	0,24b	0,17
0,25% de ANC + 0,25% AC ²	0,05	0,44b	0,22
0,50% de ANC	0,07	1,49a	0,23
0,50% de ANC + 0,25% AC	0,04	1,26a	0,25
0,50% de ANC + 0,50% AC	0,06	1,54a	0,25
0,75% de ANC	0,07	1,51a	0,23
0,75% de ANC + 0,25% AC	0,04	1,33a	0,21
0,75% de ANC + 0,50% AC	0,04	1,37a	0,21
MÉDIA	0,05	1,10	0,20
EPM ³	0,013	0,079	0,004
Efeito estatístico	<i>p-valor</i>		
ANOVA ⁴	0,1043	<.0001	0,0778
	Superóxido dismutase (UI/ μ g de proteína)		
Ração sem antioxidantes	185,62a	164,70a	131,15a
0,25% de ANC	168,03a	143,40b	115,02ab
0,25% de ANC + 0,25% AC	138,25b	133,79bc	108,14b
0,50% de ANC	141,91b	131,54bc	99,01bc
0,50% de ANC + 0,25% AC	101,77c	117,07c	87,57c
0,50% de ANC + 0,50% AC	114,50c	100,02d	83,57c
0,75% de ANC	110,53c	116,40cd	83,05c
0,75% de ANC + 0,25% AC	104,79c	112,06cd	85,91c
0,75% de ANC + 0,50% AC	91,78c	95,57d	84,57c
MÉDIA	128,5	123,9	97,61
EPM	4,818	3,367	2,292
Efeito estatístico	<i>p-valor</i>		
ANOVA	<.0001	<.0001	<.0001

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si, pelo teste SNK, a 5% de probabilidade; ANC¹- Anacardato de cálcio; AC²- Ácido cítrico; EPM³- Erro padrão da média (P<0,05); ANOVA⁴- Análise de variância.

O aumento das concentrações de CAT no magno e diminuição das concentrações de SOD no ovário, magno e útero das aves que receberam doses isoladas de ANC e associadas

com o AC sugerem que os compostos fenólicos presentes no ANC podem apresentar diferentes mecanismos de ações antioxidantes nos diversos tecidos e precisam ser melhor estudados. Segundo Papadopoulou et al. (2017), os principais polifenóis presentes no resíduo da azeitona, hidroxitirosol e o tirosol, se mostraram capazes de aumentar a atividade da catalase por meio de fosforilação oxidativa e também reduzir a atividade da SOD, sendo esse efeito associado à ação dos polifenóis na captação direta de ânion superóxido, havendo redução na atividade da enzima, como uma espécie de mecanismo de compensação.

CONCLUSÃO

A inclusão de anacardato de cálcio e sua associação com ácido cítrico na ração para poedeiras comerciais leves não influencia nos parâmetros bioquímicos sérico, com exceção da oxidação lipídica do soro podendo-se incluir 0,75% ANC ou 0,50% de ANC em associação com 0,50% de AC na ração para obter menor oxidação.

A adição isolada de anacardato de cálcio no nível de 0,75% apresenta melhor atividade antioxidante nos tecidos do fígado e sistema reprodutivo de poedeiras, a partir do pico de produção

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados encontrados nesta pesquisa, pode-se inferir que o anacardato de cálcio pode ser utilizado como aditivo fitogênico, apresentando atividade antioxidante na alimentação de poedeiras, sem apresentar prejuízos ao desempenho das aves. No entanto, na ausência de desafio de campo, o anacardato de cálcio não apresentou melhoras no desempenho de algumas das características de qualidade dos ovos.

Observa-se ainda que a ação combinada do anacardato de cálcio e ácido cítrico podem ser utilizadas para potencializar a atividade antioxidante do animal, porém uma relação de equilíbrio entre os aditivos deve ser mantida, pois, em concentrações elevadas, podem ocasionar efeito pró-oxidante. Isso foi evidenciado no atual estudo, visto que houve um aumento na oxidação lipídica das gemas.

A respeito do perfil bioquímico sérico e ação enzimática nos órgãos, a mistura dos aditivos à dietas das aves ocasionou redução da oxidação lipídica do soro e atividade da enzima catalase no fígado e aumento das concentrações de catalase no magno. Consequentemente observou-se diminuição das concentrações de SOD no ovário, magno e

útero, evidenciando, assim, o desequilíbrio entre substâncias pró-oxidante e os correspondentes mecanismos de defesa antioxidante.

Embora não se tenha encontrado efeitos para todas as variáveis analisadas neste experimento, o uso dos fitogênicos, combinados ou não, podem ser uma alternativa para utilização de antioxidantes naturais nas dietas de poedeiras.

REFERÊNCIAS

- ABOURASHED E. A. Bioavailability of Plant-Derived Antioxidants. *Antioxidants* (Basel). 2013 Nov 5;2(4):309-25. doi: 10.3390/antiox2040309
- ABREU, V. K. G. ; PEREIRA, A. L. F. ; FREITAS, E. R.; TREVISAN, M. T. S. ; COSTA, J. M. C. ; BRAZ, N, M . Cashew Nut Shell Liquid Supplementation and the Effect on Lipid Oxidation and Color in Fresh and Spray-Dried Eggs. **Journal of Food Processing and Preservation** (On Line), v. 41, p. jfpp.13001, 2017.
- ABREU, V. K. G.; PEREIRA, A. L.F; FREITAS, E. R.; TREVISAN, M. T.S; COSTA, J. M. C.; CRUZ, C. E. B. Lipid and colour stability of the meat and sausages of broiler fed with calcium anacardate. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 99, p. 2124-2131, 2019.
- ABUDABOS, A. M., ALYEMNI, A. H., DAFALLA, Y. M., & KHAN, R. U. The effect of phytogenics on growth traits, blood biochemical and intestinal histology in broiler chickens exposed to *Clostridium perfringens* challenge. **Journal Applied Animal Research**, 2018 46(1): 691-695.
- ADAMS, C.A. *Nutricines: food components in health and nutrition*. Nottingham: **Nottingham University Press**, 1999. 128 p
- ADEYI, A.O.; ADEYEMI, S.O.; EFFIONG, E.-O.P.; AJISEBIOLA, B.S.; ADEYI, O.E.; JAMES, A.S. *Moringa oleifera* Extract Extenuates *Echis ocellatus* Venom-Induced Toxicities, Histopathological Impairments and Inflammation via Enhancement of Nrf2 Expression in Rats. **Pathophysiology**. 2021; 28(1):98-115.
<https://doi.org/10.3390/pathophysiology28010009>
- ADIL, S. et al. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. **Veterinary Medicine International**, 2010
- AGOSTINI-COSTA, T.S.; JALES, K.A.; GARRUTI, D.S.; PADILHA, V.A.; LIMA, J.B.; AGUIAR, M.J.; PAIVA, J.R. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis no **Nordeste do Brasil**. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1075-1080, 2004
- AHMAD S, KHALIQUE A, PASHA TN, MEHMOOD S, HUSSAIN K, AHMAD S, RASHEED B, AWAIS MM, BHATTI AS. Influence of the feeding of oleiferous *Moringa* pods as a phyto-genic additive for performance diets, blood metabolites, chemical composition and bioactive compounds of breast meat in broilers. **Kafkas Univ Vet Fak Derg**, 24 (2): 195-202, 2018. DOI: 10.9775 / kvfd.2017.18616
- AKSIT, M. et al. The impacts of organic acid and essential oil supplementations to diets on the microbiological quality of chicken carcasses. **Archiv fur Geflugelkunde**, v.70 p.168-173, 2006.
- ALBINO, L. F. T. et al. Fase de produção II – Manejo de poedeiras após o pico de postura. In: ALBINO, L. F. T. et al. *Galinhas poedeiras: Criação e alimentação*. 1ª ed. Viçosa: **Aprenda fácil**. UFV, 2014. p.199-270

ALLEN PC, DANFORTH HD, AUGUSTINE PC. Dietary modulation of avian coccidiosis. **International Journal for Parasitology** 1998; 28(7):1131–1140.

AL-SHARAFAT, A. J.; AL-DESIET, B; AL-KOUN, S. The Effect of Calcium Level, Microbial Phytase and Citric Acid on Performance Parameters and Eggshell Quality of Laying Hens Fed Corn Soybean Meal Diet. **Journal of Animal and Veterinary Advances**. 2009. 8(9):1829-1837

ANSARI, J.; KHAN S.H, HAQ AU, YOUSAF M. Effect of the levels of Azadirachta indica dried leaf meal as phytogetic feed additive on the growth performance and haemato-biochemical parameters in broiler chicks. **J Appl Anim Res**. 2012;40:336–45.

ATAPATTU, N.S.B.M. AND C.J. NELLIGASWATTA Effects of citric acid on the performance and the utilization of phosphorus and crude protein in broiler chickens fed on rice by-products based diets. **Int. J.Poult. Sci.**2005.4(12): 990-993

BAILEY, A.E. Bailey's industrial oil and fat products, 5th ed. New York, USA. **John Wiley**, 1996.

BALLAM, G.C., T.S. NELSON AND L.B. KIRBY Effect of fiber and phytate source and of calcium and phosphorus level on phytate hydrolysis in the chick. **Poult. Sci.** (1984) 63(2): 333-338

BANERJEE, J.; EREHMAN, B.O.; GOHLKE, T.; WILHELM, R.; PREISSNER, M.; DUNKEL, D. Super natural II-a database of natural products. **Nucleic Acids Res.** 2015, 43, 935–939.

BANSOD AP, KOLASKAR AG, DR. ABHILASH D JADHAO, DR. PRATIK R JADHAV, DR. SAGAR R SURJAGADE, MORKHADE SJ. A review on recent advances in uses of organic acids in poultry production. **Int J Vet Sci Anim Husbandry** 2020;5(4):26-30.

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

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

BEHRAVAN, E., HEIDARI, M.R., HEIDARI, M., FATEMI, G., ETEMAD, L., TAGHIPOUR, G., AND ABBASIFARD, M. Comparison of gastric ulcerogenicity of percolated extract of Anacardium occidentale (cashew nut) with indomethacin in rats. **Pak. J. Pharm. Sci.** (2012) 25, 111– 115

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. Química de los Alimentos, 2. ed. **Zaragoza**, España. Acribia, 1998.

BELLAVER, C. **O uso de micro ingredientes (aditivos) na formulação de dietas para**

suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar. (2000) Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/memorias2000_bellaver.pdf. Data de acesso: 29 maio 2021.

BENCHAAR, C.; CALSAMIGLIA, S.; CHAVES, A. V.; FRASER, G. R.; COLOMBATTO, D.; MCALLISTER, T. A.; BEAUCHEMIN, K. A. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1-4, p. 209-228, 2008

BENZER, F. AND YILMAZ, S. Effects on oxidative stress and antioxidant enzyme activities of experimentally induced *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in broilers. **J. Anim. Vet.** (2009) Adv., 8, 548–553

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

BESS, A.S; CROCKER, T.L.; RYDE, I. T; MEYER, J. N. Mitochondrial dynamics and autophagy aid in removal of persistent mitochondrial DNA damage in *Caenorhabditis elegans*, **Nucleic Acids Research**, V. 40, Issue 16, 1 September 2012, p. 7916–7931.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A.; STRINGHETA, P. C. Stability of copigmented anthocyanins from *Panicum elinis* toward light and oxygen at different pH. **Bulletin Liaison-Groupe Polyphenols**, v. 16, p. 241-244, 1992.

BOLING SD, DOUGLAS MW, SNOW JL, PARSONS C, BAKER DH. Citric acid does not improve phosphorus utilization in laying hens fed a corn-soybean meal diet. **Poultry Science**. (2000) 79:1335–1337. doi: 10.1093/ps/79.9.1335

BÖLÜKBAŞI, S.C. AND M.K. ERHAN. Effect of dietary thyme (*Thymus vulgaris*) on laying hens performance and *E. coli* concentration in feces. **Int. J. Nat. Eng. Sci.** 1(2): 55-58, 2007.

BONA, T. D.M.M.; PICKLER, L.; MIGLINO, L.B.; KURITZA, L. N.; VASCONCELOS, S.P.; SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato. de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.32, n.5, p.411-418, 2012.

BONATO, M. A. et al. Efeito de acidificantes e extratos vegetais sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Ars Veterinária**, v. 24, p. 186-192, 2008.

BOTSOGLOU, E. et al. Lipid oxidation of stored eggs enriched with very long chain n3 fatty acids, as affected by dietary olive leaves (*Olea europea* L.) or α -tocopheryl acetate supplementation. **Food Chemistry**, v. 134, p. 1059-1068, 2012.

BOTSOGLOU, N.; FLOROU-PANERI, P.; KIKOLAKAKIS, L. et al. Effect of dietary saffron (*croccis sativus* l.) On the oxidative stability of egg yolk. **British Poultry Science**, v.46, p.701-707, 2005.

BOTSOGLOU, N.A.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E. ET AL. Performance of rabbits and oxidative stability of muscle tissues as affected by dietary supplementation with orégano essential oil. **Archives of Animal Nutrition**, v.58, n.3, p.209-218, 2004.

BOTSOGLOU, N.A.; YANNAKOPOULOS, A.L.; FLETOURIS, D.J. et al. Effect of dietary thyme on the oxidative stability of egg yolk. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.3711-3716, 1997.

BOURNE, L.C., RICE-EVANS, C.A. The effect of the phenolic antioxidant ferulic acid on the oxidation of low density lipoprotein depends on the pro-oxidant used. **Free Radical Research, Chur**, v.27, n.3, p.337-344, 1997.

BOZKURT, M; KAMIL KÜÇÜKYILMAZ, MEHMET PAMUKÇU, METIN ÇABUK, AHMET ALÇIÇEK & ABDULLAH U. ÇATLI. Long-term effects of dietary supplementation with an essential oil blend on growth and laying performance of two-layer strains, **Italian Journal of Animal Science**, 11: 1, (20120). DOI: 10.4081 / ijas.2012.e5

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 246-254, 1976

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa 03/2021**. Estabelece os ingredientes e aditivos autorizados para uso na produção animal e dá outras providências. (2021). disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/INMAPA03_2021IngredienteAditivosAA.pdf

BRAZ, D.B. **Acidificantes como alternativas aos antimicrobianos melhoradores de desempenho de leitões na fase de creche**. 2007. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ciência animal e Pastagens). Universidade de São Paulo – Piracicaba, SP.

BRAZ, N. M. ; FREITAS, E. R. ; TREVISAN, M. T. S. ; DO NASCIMENTO, G. A. J. ; SALLES, R. P. R. ; CRUZ, C. E. B. ; FARIAS, N. N. P. ; DA SILVA, I. N. G. ; WATANABE, P. H. . Serum biochemical profile, enzymatic activity and lipid peroxidation in organs of laying hens fed diets containing cashew nut shell liquid. **JOURNAL OF ANIMAL PHYSIOLOGY AND ANIMAL NUTRITION**, v. 102, p. 67-74, 2018.

BRAZ, N.M. ; FREITAS, E.R. ; TREVISAN, M.T.S. ; SALLES, R.P.R. ; CRUZ, C.E.B. ; FARIAS, N.N.P. ; WATANABE, P.H. . Performance and egg quality of laying hens fed different dietary levels of cashew nut shell liquid. **South African Journal of Animal Science**, v. 49, p. 513-520, 2019

BRAZ, Nádia de Melo. **Líquido da castanha de caju como fonte de ácido anacárdico na alimentação de poedeiras comerciais**. 2015. 93 f. Dissertação (mestrado em zootecnia)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2015.

BRENES, A.; VIVEIROS, A.; ARIJA, I. et al. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**, v.110, n.1-4, p.201-219, 2003.

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.

BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: **SIMPOSIO SOBRE MANEJO E NUTRICAÇÃO DE AVES E SUINOS**. Campinas, Anais... Campinas: CBNA, p. 167-182, 2003.;

BURT S. A, REINDERS R. D. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. **Lett Appl Microbiol**. 2003;36(3):162-7. doi: 10.1046/j.1472-765x.2003.01285.x. PMID: 12581376.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

ÇABUK, M., BOZKURT, M., ALÇIÇEK, A., AKBAŞ, Y., & KÜÇÜKYILMAZ, K. Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. **South African Journal of Animal Science**, 36(2): 135-141. (2006).

CALIXTO, J. B. The Role of Natural Products in Modern Drug Discovery. Anais da **Academia Brasileira de Ciências**, 91: 3, e20190105, 2019

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 3426-3431, 1996.

CATALAN, A.A.S.; GOPINGER, E.; LOPES, D.C.N.; GONÇALVES, F.M.; ROLL, A.A.P.; XAVIER, E.G.; AVILA, V.S.; ROLL, V. F. B. Aditivos fitogênicos na nutrição animal: *Panax ginseng*. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias. Lisboa, PT, 2012. p.15-22

CHAO, S.C.; YOUNG, D.G.; OBERG, C.J. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. **Journal of Essential Oil Research**, v.12, p. 639-649, 2000.

CHILANTE, R. B., KUSSAKAWA, K. C. K., E FLEMMING, J. S. Efeitos da utilização de óleos essenciais na alimentação de aves matrizes pesadas. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, v.10, p.387-394, 2012.

CHOWDHURY, R.; ISLAM, K.M.S.; KHAN, M.J.; KARIM, M.R.; HAQUE, M.N.; KHATUN, M.; PESTI, G.M. Effect of citric acid, avilamycin, and their combination on the performance, tibia ash, and immune status of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 8, p. 1616-1622, 2009.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.6. 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600026>

COSTA, et al. Níveis de proteína bruta e energia metabolizável na produção e qualidade dos ovos de poedeiras da linhagem Lohmann Brown. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v.28, n.6, p. 1421-1427, nov./dez., 2004

COTINGUIBA, G. G; SILVA, J. R.N; AZEVEDO, R. R. S; ROCHA, T. J. M; SANTOS, A. F. Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. **Journal**

of **Health Sciences**, 2013, n. 3, v. 15, p. 231-237

CRUZ, C. E. B. ; FREITAS, EDNARDO R. ; BRAZ, NÁDIA DE MELO ; SALLES, R. P. R. ; SILVA, I. N. G. . Blood parameters and enzymatic and oxidative activity in the liver of chickens fed with calcium anacardate. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 49, p. 343-352, 2018.

CRUZ, CARLOS EDUARDO BRAGA ; FREITAS, EDNARDO RODRIGUES ; AGUIAR, GERMANA COSTA ; BRAZ, NÁDIA DE MELO ; TREVISAN, MARIA TEREZA SALLES . Calcium anacardate in the diet of broiler chickens: the effects on growth and bone quality. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 50, p. 329-337, 2019

CRUZ, Carlos Eduardo Braga. **Anacardato de cálcio como fonte de ácido anacárdico na alimentação de frangos de corte**. 2015. 109 f. Tese (doutorado em zootecnia)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2015.

CUI H, KONG Y, ZHANG H. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. **Journal of Signal Transduction**. 2012;2012:646354. doi: 10.1155/2012/646354. Epub 2011 Oct 2. PMID: 21977319; PMCID: PMC3184498.

CUVELIER ME, RICHARD H, BERSET C. Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. **Biosci Biotechnol Biochem**. 1992;56:324–5.

DE MELO, M. C.A; GOMES, H. M; .FARIA, N. N.P;FREITAS, E. R ; WATANABE, P. H.; WATANABE, G C.A.; SOUZA, D. H.; .FERNANDES, D. R.Black bone syndrome in broilers fed ethanolic extract of mango seeds. 2020. **Poultry Science** 99:3229–3236 <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.02.003>

DEEPA, C.; JEYANTHI, G. P.; CHANDRASEKARAN, D. Effect of Phytase and Citric Acid Supplementation on the Growth Performance, Phosphorus, Calcium and Nitrogen Retention on Broiler Chicks Fed With Low Level of Available Phosphorus. **Asian Journal of Poultry Science** 5, p. 28-34, 2011

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. 230 p.

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of Organic Acids as a Model to Study the Impact of Gut Microflora on Nutrition and Metabolism. **Journal Appl. Poultry Res**. v.11, p.453– 463. 2002. doi: 10.1093/japr/11.4.453

DOFING, J. AND GOTTSCHAL, Microbe-microbe interactions, (1997) in **Gastrointestinal microbiology**, ed. by RI Mackie, Chapman and Hall. New York, pp. 373-389

DORMAN, H. J. D., DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants:antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, p. 308-319, 2000.

DRAPER, H. H; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**. 186: 421-431. 1990.

DUFFY, F. M; KO, C; JO, M; BRANNSTROM, M; THOMAS E CURRY, JR.,

Ovulation: Parallels With Inflammatory Processes, **Endocrine Reviews**, Volume 40, Issue 2, April 2019, Pages 369–416, <https://doi.org/10.1210/er.2018-00075>

DUTHIE, G, CROZIER, A. Plant derived phenolic antioxidants. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, v. 3, p. 457-471, 2000

ECHEVERRY, H.; YITBAREK, A.; MUNYAKA, P.; ALIZADEH, M.; CLEAVER, A.; CAMELO-JAIMES, G.; WANG, P.; O, K.; RODRIGUEZ-LECOMPTE, J. C. Organic trace mineral supplementation enhances local and systemic innate immune responses and modulates oxidative stress in broiler chickens. **Poultry Science**, v.0, p.1-10, 2016.

EIDELSBURGER, U.; KIRCHGESSNER, M. Effect of organic acids and salts in the feed in fattening performance of broilers. **Arch. Geflügelk.** 58:268-277. 1994;

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

ESMAELIPOUR, O; SHIVAZAD, M; MORAVEJ,H; AMINZADEH, S; REZAIAN,M AND M. M. VAN KRIMPEN. Effects of diet acidification and xylanase supplementation on performance, nutrient digestibility, duodenal histology and gut microflora of broilers fed wheat based diet. **British Poultry Science** 53(2):235-44. 2012. DOI:10.1080/00071668.2012.681771

ESTIEVE, G.E., BRUFAU, J. AND PEREZ, A.K.. Bioefficacy of enzyme preparations containing beta-glucanase and xylanase activities in broiler diets based on barley or heat in combination with flavomycin. (1997) **Poult Sci.**, 76: 1726-1737

FARAHAT, M.; F. ABDALLAH; T. ABDEL HAMID, AND A. HERNANDEZ SANTANA. Effect of supplementing broiler chicken diets with green tea extract on the growth performance, lipid profile, antioxidant status and immune response. (2016) **British Poultry Science** 57:714- 722.

FERNANDES, Danilo. Rodrigues. **Extrato etanólico do caroço da manga em rações para poedeiras comerciais**. 2017. 141 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017

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.

FERREIRA, JL, PH WATANABE, IB MENDONÇA, BD NOGUEIRA, ACS FERREIRA, RC NEPOMUCENO, LAF PASCOAL, et al. Calcium anacardate and citric acid as growth promoters for weaned piglets. **Livestock science** 238, (2020): 104084. doi: 10.1016/j.livsci.2020.104084

FRANZ, C.; BASER, K. H. C.; WINDISCH, W. Essential oils and aromatic plants in animal feeding - a European perspective. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 327-340, 2010.

FREITAS, E.R. et al. Comparação de métodos de determinação da gravidade específica de ovos de poedeiras comerciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.509-512, 2004.

FREITAS, E. R. et al. do. Extratos etanólicos da manga como antioxidantes para frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p.1025-1030, 2012.

FRIEDMAN, M.; HENIKA, P. R.; MANDRELL, R. E. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents Against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. **Journal of Food Protection, Des Moines**, v. 65, n. 10, p. 1545-1560, 2002.

FUKAYAMA, E. H.; BERTECHINI, A. G.; GERALDO, A.; KATO, R. K.; MURGAS, L. D. S. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2316-2326, 2005.

GABBI, A.; MORAES, R.; SKONIESKI, F. ET AL. Desempenho produtivo e comportamento de novilhas submetidas a dietas com aditivo fitogênico. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, 2009.

GADDE, U. D., OH, S., LILLEHOJ, H. S., & LILLEHOJ, E. P. (2018). Antibiotic growth promoters virginiamycin and bacitracin methylene disalicylate alter the chicken intestinal metabolome. **Scientific Reports**, 8(3592): 1-8.

GAMA, N. et al. Ácidos orgânicos em rações de poedeiras comerciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 499-502, 2000.

GAVA, A. J; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2009. 511 p.

GEORGAKOULI, K., MANTHOU, E., FATOUROS, I. G., DELI, C. K., SPANDIDOS, D. A., TSATSAKIS, A. M., KOURETAS, D., KOUTEDAKIS, Y., THEODORAKIS, Y., & JAMURTAS, A. Z. Effects of acute exercise on liver function and blood redox status in heavy drinkers. (2015). **Experimental and therapeutic medicine**, 10(6), 2015–2022. <https://doi.org/10.3892/etm.2015.2792>

GIESTING DW & EASTER RA Response of starter pigs to supplementation of corn-soybean meal diets with organic acids. (1985) **Journal of Animal Science** 60:1288-1294.

GONZALES, E.; STRINGHINI, J. H.; DAHLKE, F.; CUNHA, W. C. P.; XAVIER, S. A. G. Productive consequences of fasting neonatal chicks of different genetic constitutions for growing. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 10, n. 4, p. 253-256, 2008

GRAZZINI, R.; HESK, D.; HEININGER, E.; HILDENBRANDT, G.; REDDY, C.C.; COX-FOSTER, D.; MEDFORD, J.; CRAING, R.; MUMMA, R.O.; Inhibition of lipoxygenase and prostaglandin endoperoxidase synthase by anacardic acid. **Biochem Biophys Res Commun**. 1991, 176:775-80;

GREATHEAD, H. Plants and plant extracts for improving animal productivity. **Proceedings of the Nutrition Society**, n. 62, p. 279–290, 2003.

HALLIWELL B. How to characterize a biological antioxidant. (1990) **Free Radical Research Communications** 9, 1-3

HALLIWELL B. Free radicals and oxidative damage in biology and medicine: An

- introduction. In: Reznick A.Z., Packer L., Sen C.K., Holloszy J.O., Jackson M.J. (eds) *Oxidative Stress in Skeletal Muscle*. . (1998) . **MCBU Molecular and Cell Biology Updates**. Birkhäuser, Basel. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8958-2_1
- HALLIWELL B. AND GUTTERIDGE J. M. C. *Free Radicals in Biology and medicine*. 2nd Ed. Clarendon Press. (1989) **Oxford**.
- HALLIWELL B. AND GUTTERIDGE J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. . (1990) **Methods in Enzymology** 186, 1-85.
- HALLIWELL B. AND GUTTERIDGE J. M. C. *Free radicals in biology and medicine*. 4th. **Oxford**, UK: Clarendon Press; 2007.
- HALLIWELL B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **J Neurochem** 59:1609-1623 (1992).
- HALLIWELL, B. and CROSS, C. E. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. **Environmental Health Perspectives**, v.102 (Suppl. 10), p.5-12, 1994.
- HALLIWELL, B. AND CROSS, C. E. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. **Environ Health Perspect** 102(Suppl 10):5-12 (1994).
- HALLIWELL, B., AND GUTTERIDGE, J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford, 1999
- HAQUE MN, ISLAM KMS, AKBAR MA, KARIM MR, CHOWDHURY R, KHATUN M, KEMPPAINEN BW. Effect of dietary citric acid, flavomycin and their combination on the performance, tibia ash and immune status of broiler. (2010) **Can J Animal Sci**. 90:57–63. doi: 10.4141/CJAS09048
- HASHEMI, S. R.; DAVOODI, H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. **Veterinary Research Communications**, Oxford, v. 35, n. 2, p. 169–180, 2011.
- HAVIR, E.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalases in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450-455, 1987.
- HAYASHI, R.M, LOURENÇO M.C, MIGLINO L.B, CARON L.F, BEIRÃO B.C.B, SILVA A.V.F, SANTIN E. Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de corte desaiados com Salmonella Enteritidis e Minnesota e tratados com ácidos orgânicos. **Pesq. Vet. Bras**. 2012; 32(1): 27-36
- HEFFNER, J.E.; REPINE, J.E. Pulmonary strategies of antioxidant defense. **American Review in Respiratory Disease**, v.140, p. 531-554, 1989.
- HERNANDEZ, F., MADRID, J., GARCIA, V., ORENGO, J. & MEGIAS, M.D. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. (2004). **Poultry Science**, 83(2), 169-174
- HONG JC, STEINER T, AUFY A, LIEN TF. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota

and carcass traits in broilers. (2012.) **Livest Sci.** 144:253–262.
doi: 10.1016/j.livsci.2011.12.008

HOSTETTMANN, K; QUEIROZ, E.F; VIEIRA, P.C. 2003. **Princípios ativos de plantas superiores.** São Paulo: EDUFSCAR

HUANG, W. C., S. W. JUANG, I. M. LIU, T. C. CHI AND J. T. CHENG. Changes of superoxide dismutase gene expression and activity in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. (1999) **Neurosci. Lett.** 5:25-28.

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

HUYGHEBAERT G. Replacement of antibiotics in poultry. **In: Proceedings of the Eastern nutrition conference**, Quebec, Canada. UON, Quebec, 2003.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **Veterinary Journal**, [S.l.], v. 187, p. 182-188, 2011

HY-LINE INTERNACIONAL, 2016. Guia de manejo: W-36 Poedeiras comerciais. Acessado em: <https://docplayer.com.br/26269795-Guia-de-manejo-w-36-poedeiras-comerciais.html>

IGNAT, I., VOLF, I., POPA, V.I. A Critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v.126, p.1821- 1835, 2011

İPÇAK, H. H., & ALÇIÇEK, A. Addition of Capsicum oleoresin, Carvacrol, Cinnamaldehyde and their mixtures to the broiler diet II: Effects on meat quality. (2018) **Journal of Animal Science and Technology**, 60(9): 1-11.

ISLAM, K. Use of citric acid in broiler diets.(2012). **World's Poultry Science Journal**, 68(1), 104-118. doi:10.1017/S0043933912000116

JANG IS, KO YH, KANG SY, LEE CY. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. (2007). **Anim Feed Sci Technol.** 134:304–315.
doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.06.009

JEBELLI AJ, GHAZVINIAN K, MAHDAVI A, VAYEGHAN AJ, STAJI H, KHALIGH SG. The effect of dietary Zataria multiflora boiss: Essential oil supplementation on microbial growth and lipid peroxidation of broiler breast fillets during refrigerated storage. **J Food Process Preserv.** 2013;37:881–8.

JIWUBA, P. C., IKWUNZE, K., DAUDA, E. AND UGWU, D. O. Haematological and serum biochemical indices of growing rabbits fed diets containing varying levels of Moringa oleifera leaf meal.(2016). **British Biotechnology Journal**, 15(2): 1-7

JORDÃO JÚNIOR, A. A.; CHIARELLO, P. G.; BERNARDES, M. S. M.; VANNUCCHI, H. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutathione reduzida e da vitamina E. **Medicina**,

v. 31, p. 434- 449, 1998.

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. (1999). **Journal of agricultural and food chemistry**, 47(10), 3954–3962. <https://doi.org/10.1021/jf990146>

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. Feed Mix – **The International Journal on Feed, Nutrition and Technology** – Special: Alternatives to antibiotics. Doetinchen, 2000. p.19-21.

KAY, M.M.B.; BOSMAN, G.J.C.G.M.; SHAPIRO, S.S.; BENDICH, A.; BASSEL, P.S. Oxidation as a possible mechanism of cellular aging: Vitamin E deficiency causes premature aging and IgG binding to erythrocytes. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.83, p.2463-2467. 1986

KAYA H. KAYA A. GÜL M. ÇELEBI Ş. TIMURKAAN S. APAYDIN B. Effects of supplementation of different levels of organic acids mixture to the diet on performance, egg quality parameters, serum traits and histological criteria of laying hens. **Arch. Geflügelk.** 2014:78

KAYA, H. ET AL. 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.

KEHRER, J. P.; SMITH, C. V. Em Natural antioxidants in human health and disease; Frei, B., ed.; **Academic Press**: San Diego, 1992, p. 25.

KHAN, S.H.; IQBAL, J Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. (2016). **Journal of Applied Animal Research**, 44 (1), 359-369.

KINNULA, V.L. et al. Generation and disposal of reactive oxygen metabolites in the lung. **Laboratory Investigation**, v.73, n.1, p.3-19, 1995

KIRCHGESSNER, M. AND F.X. ROTH Fumaric acid as a feed additive in pig nutrition. (1982) **Pig News Info**. 3(3): 259-263

KOHLERT, C.; VAN RENSEN, I.; MARZ, R.; SHINDLER, G.; GRAEFE, E. U.; VEIT, M. Bioavailability and pharmacokinetics of natural volatile terpenes in animal and humans. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 66, n. 6, p. 495-505, 2000.

KONAN, N.A. BACCHI, E.M. LINCOPAN, N. VARELA, S.D. VARANDA, E.A. Acute, subacute toxicity and genotoxic effect of a hydroethanolic extract of the cashew (*Anacardium occidentale* L.) **Journal of Ethnopharmacology**, 110 (2007), pp. 30-38

KOSCOVA, J., R. NEMCOVA, S. GANCARCIKOVA, Z. JONECOVA, L. SCIRANKOVA, A. BOMBA AND V. BULECA. Effect of two plant extracts and *Lactobacillus fermentum* on colonization of gastrointestinal tract by *Salmonella enteric* var. Dusseldorf in chicks. (2006). **Biol. Brat.** 61(6): 775 – 778.

KOVACIC, P., & JACINTHO, J. D. Mechanisms of carcinogenesis: focus on oxidative stress and electron transfer. (2001). **Current medicinal chemistry**, 8(7), 773–796.

<https://doi.org/10.2174/0929867013373084>

KUBO, I. KINST-HORI, Y. YOKOKAWA. Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits **Journal of Natural Products**, 57 (1994), pp. 545-551.

KUBO, I.; MASUOKA, N.; HA, T.J.; TSUJIMOTO, K. Effects of dietary α -tocopherol, selenium, and their different combinations on growth performance and meat quality of broiler chickens. **Food Chemistry**, v.99, n.3, p.555-562, 2006.

KUBO, I.; NIHEI, K.; TSUJIMOTO, K. Antibacterial Action of Anacardic Acids against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7624–7628, 2003.

LABUZA, T. P.; HEIDELBA, N. D.; SILVER, M.; KAREL, M. Oxidation at intermediate moisture contents. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.48, n.2, p.86-89, 1971.

LANGHOUT P, SUS T. Volatile fatty acids improve performance and quality. **International Poultry Production**. 2005; 13(3):17.

LEE TT, CIOU JY, CHEN CL, YU B. Effect of *Echinacea purpurea* L. on oxidative status and meat quality in Arbor Acres broilers. **J Sci Food Agric**. 2013; 93:166–72.

LEE, K.G.; SHIBAMOTO, T. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.17, p.4947-52, 2002.

LEE, M.A., CHOI, J.H., CHOI, Y.S., KIM, H.Y., KIM, H.W., HWANG, K.E., CHUNG, H.K. & KIM, C.J., 2011. Effects of kimchi ethanolic extracts on oxidative stability of refrigerated cooked pork. **Meat Sci**. 89, 405-411.

LEESON, S., CASTON, L., SUMMERS, J.D. Layer performance of four strains of leghorn pullets subjected to various rearing programs. **Poultry Science, Champaign**, v.76 p.1–5, 1997.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. C.; COX, M. M.; **Princípios de Bioquímica**, 2a ed.; Sarvier Ed. Ltda.: São Paulo, 1995, p. 264.

LEMONS, M. J; CALIXTO, L. F. L; TORRES-CORDIDO, K. A. A; REIS, T. L. **Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de corte e de postura. Arquivos do Instituto Biológico** [online]. 2016, v. 83, n. 00 [Acessado 12 Fevereiro 2021] , e0862014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1808-1657000862014>>. Epub 24 Out 2016. ISSN 1808-1657. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000862014>.

LILLEHOJ, H.; KIM, D.K.; BRAVO, D.M.; LEE, S.H. Effects of dietary plant-derived phytonutrients on the genome-wide profiles and coccidiosis resistance in the broiler chickens. **BMC Proc**. 2011, 5, S34.

LIN MJ, CHANG SC, JEA YS; LIAO, J. W; KANG, V. Y; LEE, T.T. In vitro antioxidant capability and performance assessment of White Roman goose supplemented with dried *Toona sinensis*. **Journal off Applied Animal Research**.2016;44:395–402.

LIPPENS, M.; HUYGHEBAERT, G. AND E. CERCHIARI. Effect of using coated plant extracts and organic acids as alternatives to antimicrobial growth promoters on broiler performance. *bow.*(2005) **Geflugelkd.** 69: 261-266.

LODOVICI M, GUGLIELMI F, MEONI M, DOLARA P. Effect of natural phenolic acids on DNA oxidation in vitro. **Food Chem Toxicol.** 2001 Dec;39(12):1205-10. doi: 10.1016/s0278-6915(01)00067-9. PMID: 11696394.

LOETSCHER, Y., M. KREUZER, AND R. E. MESSIKOMMER. Utility of nettle (*Urtica dioica*) in layer diets as a natural yellow colorant for egg yolk. *Anim.* (2013) **Feed Sci. Technol.** 186:158-168.

LOGRADO, L. P. L.; SILVEIRA, D.; ROMEIRO, L. A. S.; MORAES, M. O. D.; CAVALCANTI, B. C.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C. D. Ó.; SANTOS, M. L. D. Synthesis and Biological Evaluation of New Salicylate Macrolactones from Anacardic Acids. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.16, p.1217-1225. 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.; FONSECA, L.A.B. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.1027-1035, 2012.

LOPEZ-BOTE, C.J. Bioflavonoid effects reach beyond productivity. **Feed Mix.** 12: 12-15, 2004.

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

LYKKESFELDT; O. SVENDSEN, "Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals," **Veterinary Journal**, vol. 173, no. 3, pp. 502–511, 2007.

MADSEN, H.L; BERTELSEN, G; SKIBSTED. G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, v.6, n.8, p.271-7, 1997.

MAENZ, D.D. Enzymatic characteristics of phytases as they relate to their use in animal feeds, in *Enzymes in Farm Animal Nutrition*, (2000) ed by MR Bedford and GG Partridge, CABI, United Kingdom, pp. 61-84

MAENZ, D.D. AND H.I. CLANSEN. Phytase activity in the small intestine brush border membrane of the chicken. (1998) **Poult. Sci.**77(4): 557-563.

MAHIMA, RAHAL, A., DEB, R., LATHEEF, S. K., ABDUL SAMAD, H., TIWARI, R., VERMA, A. K., KUMAR, A., & DHAMA, K. Immunomodulatory and therapeutic potentials of herbal, traditional/indigenous and ethnoveterinary medicines. (2012). **Pakistan journal of biological sciences: PJBS**, 15(16), 754–774. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2012.754.774>

MARIE-ELISABETH CUVELIER, HUBERT RICHARD, CLAUDETTE BERSET, Comparison of the Antioxidative Activity of Some Acid-phenols: Structure-Activity Relationship, **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry** , Volume 56, Issue 2, 1 de janeiro de 1992, Pages 324-325, <https://doi.org/10.1271/bbb.56.324>

MARTÍNEZ E. MÉNDEZ-ALBORES A. Effect of citric acid supplemented diets on aflatoxin degradation, growth performance and serum parameters in broiler chickens. (2011) **Arch. Med. Vet.** 43:215-222.

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

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C. DIAS, J. E. **Plantas Mediciniais**. Vicosã, MG: UFV, 2000. 220p;

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV - Imprensa Universitária, 1995. 220 p.

MASTERS C. L., SIMMS G., WEINMAN N. A., MULTHAUP G., MCDONALD B. L., BEYREUTHER K. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 1985;82(12):4245–4249. doi: 10.1073/pnas.82.12.4245

MASTERS, C.; PEGG, M.; CRANC, D. On the multiplicity of the enzyme catalase in mammalian liver. **Mol Cell Biochem** 70:113–120. 1986.

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

MELLO, J. C. P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMOES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao Medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed.UFRGS / Ed.UFSC, 2001. cap. 24, p.517-543.

MELO CAVALCANTE, A. A. C.; ARACELLI, S. L.; SANDRA, M. M. M. D.; MATOS, L. A.; SOUSA, J. M. C.; PICADA; SILVA, J. In vivo Antigenotoxic and Anticlastogenic Effects of Fresh. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, p. 792-798, 2011.

MELO, E.A.; GUERRA, N.B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologias de Alimentos**, v.36, n.1, p.1-11, 2002.

MELO-CAVALCANTE AAC, RÜBENSAM G, PICADA JN, SILVA EG, MOREIRA JCF AND HENRIQUES JAP Mutagenic evaluation, antioxidant potential and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuína. (2003) **Environ Mol Mutat** 41:360-369.

MILLER N.J., SAMPSON J., CANDEIAS L.P., BRAMLEY P.M., RICE-EVANS C.A. (1996): Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. **Febs Lett.**, 384: 240–242

MINAFRA; C.S. et al. Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa -MG, v. 39, n. 12, p. 2991- 2996, 2010.

MISHRA, B. R. JHA. Oxidative stress in the poultry gut: potential challenges and interventions. **Front. Vet. Sci.**, 6 (2019), pp. 60-65

- MORAIS, T. C. et al. Protective effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. (2010) **Chemico-biological interactions**, 183(1), 264-269.
- MOREIRA, L.F.B.; GONZÁLEZ, G.; LUCAS, E.F. Estudo da interatividade entre moléculas asfálticas e compostos estabilizantes: LCC e Cardanol. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 8, n. 3, p. 46 - 54, 1998.
- MROZ Z, KOOPMANS SJ, BANNINK A, PARTANEN K, KRASUCKI W, OVERLAND M, RADCLIFFEE S. Carboxylic acids as bioregulators and gut growth promoters in nonruminants. In: Mosenthin R, Zentek J, Zebrowska T, editors. **Biology of nutrition in growing animals**. 4a ed. London: Elsevier; 2006. p. 81-133.
- NAIDOO, V.; MCGAW, L. J.; BISSCHOP, S. P.; DUNCAN, N.; ELOFF, J. N. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. **Veterinary Parasitology**, v.153, p.214-219, 2008.
- NAIK, M.I.; FOMDA, B.A.; JAYKUMAR, E.; BHAT, J.A. Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacteria. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 1, p 535-538, 2010.
- NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Critical Reviews Food Science Nutrition**, Lauderdale, v.29, n.4, p.273-300, 1990
- NARASIMHAN, B. A. PANGHAL, N. SINGH, A.S. DHAKE Efficiency of anacardic acid as preservative in tomato products. **Journal of Food Processing and Preservation**. V.32 (4), p. 600-609, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00201.x>
- NASCIMENTO, G.G.F., J. LOCATELLI, P.C. FREITAS AND G. L. SILVA. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. (2000). **Braz. J.Microbiol.** 31: 247-256.
- NAWAR WF. Lipids. In: O Fennema, editor. (1996)**Food chemistry**. 3rd ed. New York :Marcel Dekker, Inc. p 225– 320.
- NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 156, n. 1, p. 7-17, 2012.
- NEZHAD, Y. E; SHIVAZAD, R. M; TAHERKHANI E K. NAZERADL. Effects of Citric Acid Supplementation on Phytate Phosphorus Utilization and Microbial Phytase Efficiency in Laying Hens. (2007) **Journal of Biological Sciences**, 7: 638-642.
- NIKI, E Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals. (1991) **Am J Clin Nutr** 54: 1119S-1124S
- 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.

NOURMOHAMMADI, R. MOHAMMAD, S HOSSEINI AND FARHANGFAR, H. Effect of Dietary Acidification on Some Blood Parameters and Weekly Performance of Broiler Chickens. (2010). **Journal of animal and Veterinary Advances**, 9: 3092-3097.

OETTING, L. L. **Extratos vegetais como promotores de crescimento de leitões recém-desmamados**. 2005. 81 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

OLAJIDE, O. A.; ADEROGBA. M. A.; ADEDAPO, A. D.; MAKINDE, J. M. Effects of Anacardium occidentale stem bark extract on in vivo inflammatory models. **Journal Ethnopharmacol.** 2004; 162:161-6

OMANAKUTTAN, A; NAMBIAR, J; HARRIS, R.M; BOSE, C; PANDURANGAN, N; VARGHESE, R. K; KUMAR, G.B; TAINER, J.A; BANERJI, A; PERRY, J.J.P; NAIR, B.G. Anacardic Acid Inhibits the Catalytic Activity of Matrix Metalloproteinase-2 and Matrix Metalloproteinase-9. **Molecular Pharmacology**, v. 82, p. 614- 622, 2012.

OSMARI, M.P.; MATOS, L.F.; SALAB, B.L.; DIAZ, T.G.; GIOTTO, F.M. Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidades na produção animal. Publicações em **Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.9, n.3, p.143-149, 2015.

OSTERMANN, D.; SANFEKUCE, A. M.; VIEIRA, S. L. Metabolismo E Bases Conceituais Para a Ação Benéfica de Ácidos Orgânicos para Frangos de Corte. **In: Ave World: A Revista do Agricultor Moderno**. São Paulo, ano 3, n. 15, p. 28-31, 2005

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.18, n.2, 2008.

ÖZEK, K. et al. 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.

OZKAYA, Y. G., A. AGAR AND P. YARGICOGLU. The effect of exercise on brain antioxidant status of diabetic rats. (2002) **Diabetes Metab.** 28:377-384. p. 1603–1616. 2010

PAPADOPOULOU, A., PETROTOS, K., STAGOS, D., GERASOPOULOS, K., MAIMARIS, A., MAKRI, H., KAFANTARIS, I., MAKRI, S., KERASIOTI, E., HALABALAKI, M., BRIEDES, V., NTASI, G., KOKKAS, S., TZIMAS, P., GOULAS, P., ZAKHARENKO, A. M., GOLOKHAVAST, K. S., TSATSAKIS, A., & KOURETAS, D. (2017). Enhancement of Antioxidant Mechanisms and Reduction of Oxidative Stress in Chickens after the Administration of Drinking Water Enriched with Polyphenolic Powder from Olive Mill Waste Waters. **Oxidative medicine and cellular longevity**, 2017, 8273160. <https://doi.org/10.1155/2017/8273160>

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. **J Agric Food Chemistry**, 49, pp. 2548-2551 (2001).

PARASKEUAS, V.; K. FEGEROS; C. HUNGER; GTHEODOROU, AND K. C. MOUNTZOURIS. Dietary inclusion level effects of a phytogetic characterised by menthol and anethole on broiler growth performance, biochemical parameters including total antioxidant capacity and gene expression of immune-related biomarkers. (2017) **Animal Production Science** 57:33-41

PARPINELLO, G. P. et al. 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, 2005

PARPINELLO, G.P.; MELUZZI, A.; SIRRI, F. et al. 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. Organic acids-their efficacy and modes of action in pigs. In Gut Environment of Pigs; Piva, A., Bach Knudsen, K.E., Lindberg, J.E., Eds.; **Nottingham University Press**: Nottingham, UK, 2001; pp. 201–217.

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

PASTOR, N. et al. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBPDNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequencespecific binding. **J. Mol. Biol.**, 304, 55–68. 2000.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícos antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PERRY, J.J.P. et al. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. **Review. Biochimica et Biophysica Acta** 1804. 245–262. 2010.

PIETTA, P.; KUMPULAINEN J. T.; SALONEN, J. T. Dietary flavonoids and antioxidante protection. In: KUMPULAILEN, J. T.; LEHTONEN, M.; MATILLA, P. (Ed.). Natural antioxidants and anticarcinogens in nutrition, health and disease. Cambridge: **Royal Society of Chemistry**, 1999. p. 137-140

PIOTROWSK, A. A., BURLIKOWSK, A. K., & SZYMECZK, O. R Changes in blood chemistry in 447 broiler chickens during the fattening period. (2011). **Folia Biologica** (Kraków), 59, 18-87.

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

POLYCARPO, G. V; ANDRETTA, I; KIPPER, M; CRUZ-POLYCARPO, V. C; DADALT, J. C; RODRIGUES, P. H. M; ALBUQUERQUE. P. H. M. Meta-analytic study of organic acids as an alternative performance-enhancing feed additive to antibiotics for broiler chickens. **Poult. Sci.**, 96 (2017), pp. 3645-3653

PROCHÁZKOVÁ, D., BOUŠOVÁ, I., & WILHELMOVÁ, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. (2011). **Fitoterapia**, 82(4), 513–523.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018>

QI, X; WU, X; ZHANG, H; YUE, H; XU, S JI, F; & QI, G Effects of dietary conjugated linoleic acids on lipid metabolism and antioxidant capacity in laying hens. (2011) **Archives of Animal Nutrition**, 65:5, 354- 365, DOI: 10.1080/1745039X.2011.617546

RACANICCI, A. M.; J. F. MENTEN; S. M. ALENCAR; R. S. BUISSA, AND L. H. SKIBSTED. Mate (*Ilex paraguariensis*) as dietary additive for broilers: performance and oxidative stability of meat. European. (2011) **Food Research and Technology** 232:655-661.

RACANICCI, A.M.C. et al. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). European **Food Research and Technology**, v.218, p.521-524, 2004.

RADCLIFFE, J. S.; ZHANG, Z.; KORNEGAY, E. T. The effects of microbial phytase, citric acid, and their interaction in a corn-soybean meal-based diet for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, [S.l.], v. 76, n. 7, p. 1880-1886, 1998.

RAHMAN, I. et al. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. **European Journal of Pharmacology**, v.533, n.1-3, p.222-239, 2006. Disponível em:<http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T1JJCBM1W1_user=972052&_coverDate=03/08/2006&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000049647&_version=1&_urlVersion=0&_userid=972052&md5=4f260254bcb783704ed52ee8a8739cde#SECX1>. Acesso em: 03 de maio. 2020. doi: 10.1016/j.ejphar.2005.12.087.

RATNAM, D.V. et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, v. 113, p. 189–207, 2006

RAVINDRAN, V.; CABAUG, S.; RAVIDRAN, G. et al. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broiler. **Poultry Science**, v.78, n.5, p. 699- 706, 2000.

RE, R; PELEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

REMER T. Influence of diet on acid-base balance. **Semin Dial**. 2000; 13(4):221-6.

RENZ, S.V. **Oxidação e antioxidantes**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de pós-graduação em Ciências veterinárias. [seminário]. 2003.

REUTER, S., GUPTA, S.C., CHATURVEDI, M.M. AND AGGARWAL, B.B. Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer: How Are They Linked? (2010) **Free Radical Biology and Medicine**, 49, 1603-1616.<http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>

RHOADS, R. P.; BAUMGARD, L. H.; SUAGEE, J. K.; SANDERS, S. R. “Nutritional interventions to alleviate the negative consequences of heat stress,” **Advances in Nutrition**, vol. 4, pp. 267–276, 2013

RICE-EVANS, C. A.; NICHOLAS, J. M.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity

relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.20, n. 7, p.933-956, 1996.

RIDNOUR, LA., ISENBERG, JS., ESPEY, MG., THOMAS, DD., ROBERTS, DD., WINK, DA. Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. (2005). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 102 : 13147–13152.

RIZZO, P. V.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; SANTAROSA, J. Foundation and perspectives of the use of plant extracts as performance enhancers in broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 10, n. 4, p. 195-204, 2008

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

ROSS, D.; MOLDEUS, P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In VigoPelfrey C: Membrane lipid oxidation. Boca Raton, **CRC Press**, v.54, p.151-170, 1991.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; ABREU, M. L. T.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. **Tabelas Brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4a Ed, 2017

ROTAVA, et al. Bioquímica sanguínea de frangos de corte alimentados com subprodutos da uva. **Agrarian**, v.1, n.1, p.91-104. 2008.

RUBIÓ, L., MOTILVA, M. J., AND ROMERO, M. P. Recent advances in biologically active compounds in herbs and spices: a review of the most effective antioxidant and anti-inflammatory active principles. *Crit. (2013)*. **Rev. Food Sci. Nutr.** 53, 943–953. doi: 10.1080/10408398.2011.574802

SADEGHI, A. A.; IZADI, W. P.; SHAWRANG, M.; CHAMANI, M. C.; AFSHAR, M. A. A comparison of the effects of dietary ginger powder and avilamycin on growth performance and intestinal Salmonella count of challenged broiler chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, v.3, p.769-775, 2013.

SAHIN K, ORHAN C, TUZCU M, et al. Epigallocatechin-3-gallate prevents lipid peroxidation and enhances antioxidant defense system via modulating hepatic nuclear transcription factors in heat-stressed quails. **Poult Sci.** 2011;89:2251–8.

SAITO, K.; MATSUDA, F. Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology. **Annu. Rev. Plant Biol.** 2010, 61, 463–489

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 283p. 2007.

SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD. **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 678p., 2014.

SALGADO-TRÁNSITO,L; DEL RÍO-GARCÍA,J.C; ARJONA-ROMÁN,J.L; MORENO-

MARTÍNEZ, E; MÉNDEZ-ALBORES, A. Effect of citric acid supplemented diets on aflatoxin degradation, growth performance and serum parameters in broiler chickens. **Arch Med Vet** 43, 215-222 (2011) <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2011000300003>

SANTOS, M. L. D.; MAGALHÃES, G. C. D. Utilisation of Cashew Nut Shell Liquid from *Anacardium occidentale* as Starting Material for Organic Synthesis: A Novel Route to Lasiodiplodin from Cardols. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.10, p.13-20. 1999

SANTOS, M. L. D.; MAGALHÃES, G. C. Síntese de lactona macrocíclica a partir do ácido anacárdico: Uma reinvestigação. **Química Nova**, v.16, p.634-536. 1993.

SANTOS, Rebeca Cruz Dos. **Anacardato de cálcio como fonte de ácido anacárdico na alimentação de codornas japonesas em postura**. 2014. 54 f. : Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza-CE, 2014;

SAS Institute. **SAS Users guide: Statistics**. Version 8. Carry, NC, 2000.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMOES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2001. cap.27, p.597-619.

SCHEUERMANN, G. N.; CUNHA JUNIOR, A.; CYPRIANO, L.; GABBI, A. M. Aditivo fitogênico como alternativa aos promotores de crescimento em frangos de corte. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.522 – 527, 2009.

SENGOR, E., M. YARDIMCI, S. CETINGUL, I. BAYRAM, H. SAHIN AND I. DOGAN. Short communication effects of Short Chain Fatty Acid (SCFA) supplementation on performance and egg characteristics of old breeder hens.(2007) **South Afr. J. Anim. Sci.**, 37: 158-163.

SETTLE T, L S.S, FALKENSTEIN E, FIX N, VAN DYKE K, KLANDORF H. Effects of a Phytogenic Feed Additive Versus an Antibiotic Feed Additive on Oxidative Stress in Broiler Chicks and a Possible Mechanism Determined by Electron Spin Resonance. (2014). **International journal of poultry science**, 13(2), 62–69. <https://doi.org/10.3923/ijps.2014.62.69>

SEVEN, I., AKSU, T., & SEVEN, P. T. The effects of propolis on biochemical parameters and activity of antioxidant enzymes in broilers exposed to lead-induced oxidative stress. (2010). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 23(11), 1482-1489.

SHAHIDI S, MAZIAR Y, DELARAM NZ. Influence of dietary organic acids supplementation on reproductive performance of freshwater Angelfish (*Pterophyllum scalare*) (2014) **Global Vet**. 13:373–377.

SHVEDOVA A, KISIN E, MURRAY A, GORELIK O, AREPALLI S et al. Vitamin E deficiency enhances pulmonary inflammatory response and oxidative stress induced by single-walled carbon nanotubes in C57BL/ 6 mice. (2007). **Toxicology and Applied Pharmacology** 221: 339-348

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **Am.J.Med.**, v.91

(suppl 3C): p.31S38S, 1991

SIES, H., & MOSS, K. M. A role of mitochondrial glutathione peroxidase in modulating mitochondrial oxidations in liver. (1978). **European journal of biochemistry**, 84(2), 377–383. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1978.tb12178.x>

SIMIC, M.G., JAVANOVIC, S.V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: HO, C.T., OSAWA, T., HUANG, T.M., ROSEN, R.T. (Ed.). Food phytochemicals for cancer prevention. Washington : **American Chemical Society**, 1994. p.20-33. (ACS Symposium Series, n.546).

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Ed. 6a, Porto Alegre, ED. UFRGS, 1102 p., 2007.

SINGH J., GAIKWAD D.S. Phytogetic Feed Additives in Animal Nutrition. In: Singh J., Yadav A. (eds) **Natural Bioactive Products in Sustainable Agriculture**. 2020. Springer, Singapore.

SMITH, R.L., COHEN, S.M., DOULL, J., FERON, V.J., GOODMAN, J.I., MARNETT, L.J., PORTOGHESE, P.S., WADDELL, W.J., WAGNER, B.M., HALL, R.L., HIGLEY, N.A., GAVIN, C.L., ADAMS, T.B. A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 345-363, 2005.

SNOW, J.L. et al. Phytase, citric acid and 1 α -Hydroxycholecalciferol improve phytate phosphorus utilization in chicks fed a corn-soybean meal diet. **Poultry Science**, v.83, p.1187-1192. 2004.

SOLTAN, M.A. 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

SON, H.K; KANG, S.T LEE,J.J. Effects of peucedanum japonicum thunb. on lipid metabolism and antioxidative activities in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet J. Korean Soc. **Food Science Nutr.**, 43 (2014), pp. 641-649

SONG Z, CAWTHON D, BEERS K, BOTTJE WG. Hepatic and extra-hepatic stimulation of glutathione release into plasma by norepinephrine in vivo. **Poultry Science** 2000;79:1632-1639

STRAUSS, G.; HAYLER, T. Effects of organic acids on microorganisms. **Feed Magazine/Kraftfutter**, Frankfurt, v. 4, p. 147- 151, 2001

SUIRYANRAYNA, M.V.A.N.; RAMANA, J.V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.6, p.1-11, 2015. DOI: 10.1186/s40104-015-0042-z.

SUNG, B.; PANDEY MK, AHN KS, YI T, CHATURVEDI MM, LIU M, AGGARWAL BB. Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-kappaB-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory

subunit of nuclear factor-kappaB/alpha kinase, leading to potentiation of apoptosis. **Blood.**, v.15, 111(10):4880-91, 2008.

SURAI, P. F. Antioxidant systems in poultry biology: superoxide dismutase. (2016). **Journal of Animal Research and Nutrition**, 1(18), 1-17. doi: 10.21767/2572-5459.100008

SURAI, P. F. Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick. **British Poultry Science**, v.41, p.235-243, 2000

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

SURAI, P.F., FISININ, V.I. Antioxidant- Prooxidant Balance in the Intestine: Applications in Chick Placement and Pig Weaning. (2015A) **Journal of Veterinary Science & Medicine** 3: 1: 16.

SURAI, P.F., FISININ, V.I. Antioxidant system regulation: from vitamins to vitagenes. In: Handbook of Cholesterol (Ronald Ross Watson, Fabien De Meester, Eds.). (2015B) **Wageningen Academic Publishers**, Wageningen, pp. 451-481

SURAI, P. F. Antioxidant Systems in Poultry Biology: Superoxide Dismutase. **Journal of Animal Research and Nutrition**. 2016. Vol.1 No.1:8. DOI: 10.21767/2572-5459.100008

SUZUKI, O. H.; FLEMMING, J. S.; SILVA, M. E. T. Uso de óleos essenciais® 1 na alimentação de leitões. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambiental**, v. 6, n. 4, p. 519–526, 2008

ŚWIĄTKIEWICZ, S., KORELESKI, J., & ARCZEWSKA, A. Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. **Czech Journal of Animal Science**, Praha, v.55, n.7, p. 294-306, 2010.

TOLEDO, G. I. S. P.; COSTA, P. T. C.; SILVA, L. P.; PINTO, D.; FERREIRA, P.; POLETTO, C. J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p 1760-1764, 2007.

TOYOMIZU, M. et al. Inhibitory effect of dietary anacardic acid supplementation on cecal lesion formation following chicken coccidial infection. **Animal Science Journal**, v. 74, n. 2, p. 105-109. 2003

TOYOMIZU, M.; SUGIYAMA, S.; JIN, R.L.; NAKATSU, T. α -Glucosidase and aldose reductase inhibitors: constituents of Cashew, *Anacardium occidentale*, nut shell liquid. **Phytotherapy Research**, v. 7, p. 252-254, 1993.

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

TRABER, M.G. Cellular and molecular mechanisms of oxidants and antioxidants. **Mineral and Electrolyte Metabolism**, Basel, v. 23 (3-6), p. 135-139, 1997.

TRACHOOTHAM D, ALEXANDRE J, HUANG P. TARGETING Cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? **Nat Rev Drug Discov.** 2009 Jul;8(7):579-91. doi: 10.1038/nrd2803. Epub 2009 May 29. PMID: 19478820

TREVISAN, M.T.S.B. et al. 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.

TSAO R, DENG Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. **J Chromatogr B.** 2004;812:85–99.

TUZCU M, SAHIN N, KARATEPE M, et al. Epigallocatechin-3-gallate supplementation can improve antioxidant status in stressed quail. **Br Poult Sci.** 2008;49:643–8.

TYMAN, J. H. P. Long-chain phenols : IV. Quantitative determination of the olefinic composition of the component phenols in cashew nut-shell liquid. **Journal of Chromatography A.** v. 111 (2), 3, P:277-284, 1975. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)99275-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)99275-6)

UCHEGBU MC, OGBUEWU IP, EZEBUIRO LE Blood chemistry and haematology of finisher broilers fed plantain (*Musa paradisiaca* L) peel in their diets. (2017) **Comp Clin Path.** <https://doi.org/10.1007/s00580-017-2421-7>

URBANSKA, A.M; ZOLLA, V; VERZANI, P; SANAMBROGIO, L. Physiological and Pathological Role of Reactive Oxygen Species in the Immune Cells. **Immunology of Aging**, p. 309-321, 2014

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.39, n.1, p.44-84, 2007.

VALKO, M., MORRIS, H., & CRONIN, M. T. Metals, toxicity and oxidative stress. (2005). **Current medicinal chemistry**, 12(10), 1161–1208. <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>

VALKO, M., MORRIS, H., MAZÚR, M., RAPTA, P., & BILTON, R. F. Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: do the semiquinones of vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer?. (2001). **Biochimica et biophysica acta**, 1527(3), 161–166. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(01\)00163-5](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(01)00163-5)

VALKO, M., RHODES, C. J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M., & MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. (2006). **Chemico-biological interactions**, 160(1), 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>

VASCONCELOS, F. C.; BASTOS-LEITE, S. C.; GOMES, T. C. L.; GOULART, C. C.; SOUSA, A. M.; FONTENELE, G. S. P. Ácidos orgânicos, óleos essenciais e simbiótico na dieta de poedeiras semipesadas: desempenho produtivo e análise econômica. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.10, n.3, p.194-200, 2016.

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

VIEIRA, L. M. et al. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic.** v.33. n.3. Jaboticabal. 2011.

VIEIRA, T.S. **Estudos visando à síntese de novos derivados do LCC com potencial atividade no tratamento da doença de Alzheimer.** 2007. 89 f. Dissertação (mestrado em química) - Universidade de Brasília, Brasília.

VILAS BOAS, A. D. C. V. **Suplementação de ácidos orgânicos em dietas para leitões na fase de creche.** 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em produção animal sustentável). Instituto de Zootecnia da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, 2014.

WANG, R.; LI, D.; BOURNE, S. Can 2000 years of herbal medicine history help us solve problems in year 2000?. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 14., 1998, Nottingham. Proceedings... Nottingham: ALLTECH, 1998. p. 168-184.

WANG, W., WU, N., ZU, Y. G., E FU, Y. J. Antioxidative activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to its main components. **Food chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1019-1022, 2008.

WINDISCH, W., SCHEDULE, K., PLITZNER, C., & KROISMAYR, A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. (2008). **Journal of Animal Science**, 86(14): 140-148.

WITKOWSKA, A., HICKEY, D., ALONSO-GOMEZ, M., & WILKINSON, M. Evaluation of antimicrobial activities of commercial herb and spice extracts against selected foodborne bacteria. (2013). **Journal of Food Research**, 2, 37–54. <https://doi.org/10.5539/jfr.v2n4p37>

WOHAIEB, S.A, GODIN, D.V. Starvation-related alterations in free radical tissue defence mechanisms in rats. **Diabetes** 1987; 36: 169–173

WOLFFRAM, S. B. BISANG, B. GRENACHER, E. SCHARRER Transport of tri- and dicarboxylic acids across the intestinal brush border membrane of calves **J. Nutr.**, 120 (1990), pp. 767-774

YI, Z.; KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D.M. et al. Supplemental microbial phytase improves the zinc utilization in broilers. **Poultry Science**, v75, p. 540-546, 1996;

YILDIRIM, O; BUYUKBINGOI, Z. Effect of cobalt on the oxidative status in heart and aorta of streptozotocin-induced diabetic rats cell biochemistry and function. 21: 27–33. 2003; DOI: 10.1002/cbf.995

YOUNG, J. F., STAGSTED, J., JENSES, S. K., KARLSSON, A. H.; HENCKEL, P. Ascorbic Acid, α -Tocopherol, and Oregano Supplements Reduce Stress-Induced Deterioration of Chicken Meat Quality. **Poultry Science, Champaign**, v. 82, p. 1343-1351, 2003

YOUSSEF, A. W. et al. Effect of probiotics, prebiotics and organic acids on layer performance and egg quality. Asian Journal of **Poultry Science**, v. 7, p.65-74, 2013.

YU, J.; CHEN, Y.; ZHAI, L.; ZHANG, L.; XU, Y.; WANG, S.; HU, S. Antioxidative effect of ginseng stem-leaf saponins on oxidative stress induced by cyclophosphamide in chickens. **Poultry Science**, v.94, p.927-933, 2015

ZHANG, L.-X.; COONEY, R.V.; BERTRAM, J.S. Carotenoids enhance gap junctional communication and inhibit lipid peroxidation in C3H/10T1/2 cells: Relationship to their cancer chemopreventive action. **Carcinogenesis** 1991, 12, 2109–2114

ZHANG, X.Y; LI, L.P.; MIAO, N.N. Effects of in ovo feeding of cationic amino acids on hatchability, hatch weights, and organ developments in domestic pigeon squabs (*Columba livia*). **Poultry Science**, v. 97, p.110–117, 2018.

ZHAO, X. et al. 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.

ZOU, X. T., XU, Z. R., ZHU, J. L., FANG, X. J., E JIANG, J. F. Effects of dietary dihydropyridine supplementation on laying performance and fat metabolism of laying hens. **Asian Australasian Journal Of Animal Sciences**, v. 20, n. 10, p. 1606, 2007.