



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTENCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUÇÃO EM ZOOTECCIA

EDIBERGUE OLIVEIRA DOS SANTOS

ANACARDATO DE CÁLCIO EM ASSOCIAÇÃO COM ÁCIDO CÍTRICO NA
RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

FORTALEZA

2023

EDIBERGUE OLIVEIRA DOS SANTOS

ANACARDATO DE CÁLCIO EM ASSOCIAÇÃO COM ÁCIDO CÍTRICO NA
RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.

Coorientador: Dr. Rafael Carlos Nepomuceno.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

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

S234a Santos, Edibergue Oliveira dos.
Associação de anacardato de cálcio e ácido cítrico na ração de frangos de corte / Edibergue Oliveira dos Santos. – 2023.
117 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.

Coorientação: Prof. Dr. Rafael Carlos Nepomuceno.

1. Antioxidante. 2. Ácido anacárdico. 3. Ácido orgânico. 4. Desempenho. I. Título.

CDD 636.08

EDIBERGUE OLIVEIRA DOS SANTOS

ANACARDATO DE CÁLCIO EM ASSOCIAÇÃO COM ÁCIDO CÍTRICO NA
RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal.

Aprovada em: 27/07/2023.

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)

Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Leilane Rocha Barros Dourado
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Prof. Dr. Thalles Ribeiro Gomes
Universidade Federal de Roraima (UFRR)

A Deus, por ser meu guia em todos os momentos.

Aos meus pais, José Vandenbergue dos Santos e Antônia Edlane Oliveira de Menezes e às minhas irmãs, Edicleia Oliveira dos Santos, Edicleuma Oliveira dos Santos e Emily Oliveira dos Santos pelo amor, compreensão, carinho, paciência e força durante toda essa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter permitido alcançar mais uma etapa da minha vida.

À minha mãe Antônia Edlane Oliveira de Menezes e ao meu pai José Vandenbergue dos Santos, por todo o carinho e exemplo. Obrigado pela boa educação, pelo amor, pelo constante incentivo e por me ensinar os princípios de vida, dos quais me orgulho de ter.

Às minhas irmãs Edicleia Oliveira dos Santos, Edicleuma Oliveira dos Santos e Emily Oliveira dos Santos, que sempre apoiaram minhas escolhas e se fizeram presentes quando necessário.

Ao professor e orientador, Ednardo Rodrigues Freitas, exemplo de professor dedicado à pesquisa científica na avicultura, pela paciência, ensinamentos, amizade e todo o apoio durante esse período, pois esteve sempre disponível para sanar dúvidas desde a realização do experimento, redação da tese e demais assuntos científicos, sempre mostrando compromisso e responsabilidade de um bom orientador.

Ao Coorientador Dr. Rafael Carlos Nepomuceno pela disponibilidade para sanar dúvidas, pela amizade e por toda a colaboração durante esse período.

Aos demais professores membros da banca examinadora, prof. Dr. Germano Augusto Jerônimo do Nascimento, profa. Dra. Leilane Rocha Barros Dourado, prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe, prof. Dr. Thalles Ribeiro Gomes, pela disponibilidade e cooperação com o trabalho desenvolvido.

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

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da UFC, representados por Rafael Nepomuceno, Danilo Fernandes, Isaías Carlos, Francisco Ormanir, Marcelo, Cláudio, Diego e Márcio.

Aos colegas e amigos que contribuíram de maneira mais próxima para realização do experimento, Abraão Paulino, Anna Kayllyny, Carla Cordeiro, Cirliane Freitas, Davi Matos, Ester Sanil, Luana Ledz, Marcelle Craveiro, Miguel Oliveira, Nicolas Lima, Valquíria Silva, entre outros que participaram ativamente das atividades experimentais. Sem a equipe não seria possível a realização desta pesquisa.

Ao grupo do Complexo, formado durante a graduação, pela grande amizade ao longo desse tempo, representados por Alfredo, Danilo, Germano, Israel, Marcelo, Janiquelle Rabelo, Antônio Neto, Ramon Cruz, Tiago e Valsergio Barros. E aos demais amigos como Sebastião e amigas, que sempre estiveram do meu lado, nos bons e maus momentos.

À Universidade Federal do Ceará e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização do curso, aos demais professores, funcionários e colegas que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa - CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

“O entusiasmo é a maior força da alma.
Conserva-o e nunca te faltará poder para
consequires o que desejas.” (Hill, Napoleon)

RESUMO

Objetivou-se avaliar a associação de anacardato de cálcio e ácido cítrico, sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue, sistema digestivo, desempenho, características de carcaça, oxidação lipídica do soro sanguíneo e fígado, parâmetros de qualidade da carne *in natura*, concentração de compostos fenólicos da carne *in natura*, potencial e atividade antioxidante da carne *in natura*, oxidação lipídica da carne *in natura* e armazenada, parâmetros ósseos e a incidência da síndrome do osso negro. Para isso, 768 pintos machos de frangos de corte da linhagem Ross com 1 dia de idade, foram distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado com oito tratamentos e seis repetições de 16 aves. Os tratamentos foram constituídos por: ração controle negativo (sem promotor de crescimento e sem anticoccidiano); ração controle positivo (com promotor de crescimento e anticoccidiano); ração com 0,25% AnCa (Anacardato de cálcio) + 0,25% AC (Ácido cítrico); ração com 0,50% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,50% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,75% AC. Aves alimentadas com ração controle negativo, as diferentes combinações de anacardato e ácido cítrico reduziram o nível de ácido úrico no sangue das aves aos 21 dias de idade. O peso relativo do duodeno foi maior com a adição de 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC aos 21 e 42 dias de idade. A capacidade antioxidante do sangue aumentou com a adição de rações contendo 0,50% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC; 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC aos 42 dias de idade. A oxidação lipídica do sangue diminuiu com todas as doses de AnCa + AC aos 42 dias de idade e a oxidação lipídica do fígado diminuiu com todas as doses de AnCa + AC aos 21 e 42 dias de idade. Quanto ao desempenho, no período de 1 a 42 dias de idade a conversão alimentar melhorou com as combinações de 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC; e 0,75% AnCa + 0,50% AC. O potencial (DPPH) e a atividade (ABTS) antioxidante da carne aumentaram com a adição a partir de 0,50% AnCa + 0,50% AC em relação aos tratamentos controle negativo e controle positivo. Quanto aos compostos fenólicos da carne, todos os tratamentos com combinações de AnCa + AC apresentaram maior concentração em relação ao tratamento controle negativo. Na avaliação da estabilidade lipídica da carne, observou-se que a carne *in natura* e armazenada oriundas de aves alimentadas com as diferentes combinações de AnCa + AC apresentaram melhores valores comparados ao tratamento controle negativo. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para os parâmetros ósseos e quanto a incidência da síndrome do osso negro. Conclui-se que a concentração de ácido úrico sanguíneo em frangos até 21 dias reduz com a

adição de anacardato de cálcio e ácido cítrico em todos os níveis testados. Já o consumo de ração e ganho de peso reduzem com a adição das combinações de 0,50% AnCa e 0,25% AC; 0,50% AnCa e 0,50% AC; 0,75% AnCa e 0,25% AC; 0,75% AnCa e 0,50% AC e 0,75% AnCa e 0,75% AC. Contudo, quando se considera o período total de criação, pode-se recomendar a adição de 0,50% AnCa + 0,50% AC, visto que esta combinação melhora o estado oxidativo no sangue e fígado dos frangos aos 42 dias de idade e a conversão alimentar. A combinação 0,50% AnCa + 0,50% AC também se mostrou suficiente para obtenção dos benefícios de melhoria na concentração de compostos fenólicos, atividade e capacidade antioxidante da carne *in natura* e redução na oxidação lipídica da carne *in natura* e armazenada por 60 dias. O crescimento, qualidade óssea e a incidência da síndrome do osso negro não são alterados com a adição de até 0,75% de anacardato de cálcio em associação com 0,75% ácido cítrico.

Palavras-chave: antioxidante; ácido anacárdico; ácido orgânico; desempenho.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the association of calcium anacardate and citric acid on hematological and biochemical parameters of the blood, digestive system, performance, carcass characteristics, lipid oxidation of blood serum and liver, fresh meat quality parameters, concentration of compounds phenolics of fresh meat, potential and antioxidant activity of fresh meat, lipid oxidation of fresh and stored meat, bone parameters and the incidence of black bone syndrome. For this, 768 male Ross broiler chicks, 1 day old, were distributed in a completely randomized experimental design with eight treatments and six replications of 16 birds. The treatments consisted of rations, which were: negative control ration (without growth promoter and without anticoccidial); positive control ration (with growth promoter and with anticoccidial); feed with 0.25% AnCa (Calcium anacardate) + 0.25% AC (Citric acid); feed with 0.50% AnCa + 0.25% CA; feed with 0.50% AnCa + 0.50% CA; feed with 0.75% AnCa + 0.25% CA; feed with 0.75% AnCa + 0.50% CA; feed with 0.75% AnCa + 0.75% AC. According to the results, in relation to the birds fed with negative control ration, the different combinations of anacardate and citric acid reduced the level of uric acid in the blood of the birds at 21 days of age. The relative weight of the duodenum was greater with the addition of 0.75% AnCa + 0.50% AC and 0.75% AnCa + 0.75% AC at 21 and 42 days of age. The blood antioxidant capacity increased with the addition of diets containing 0.50% AnCa + 0.25% AC; 0.50% AnCa + 0.50% AC; 0.75% AnCa + 0.25% AC; 0.75% AnCa + 0.50% AC and 0.75% AnCa + 0.75% AC at 42 days of age. The blood lipid oxidation decreased with all doses of AnCa + AC at 42 days of age and the Liver lipid oxidation decreased with all doses of AnCa + AC at 21 and 42 days of age. As for performance, in the period from 1 to 42 days of age, feed conversion improved with combinations of 0.50% AnCa + 0.50% CA; 0.75% AnCa + 0.25% AC; and 0.75% AnCa + 0.50% AC. The meat antioxidant potential (DPPH) and activity (ABTS) increased with the addition of 0.50% AnCa + 0.50% AC in relation to the negative control and positive control treatments. As for meat phenolic compounds, all treatments with combinations of AnCa + CA showed higher concentrations compared to the negative control treatment. In the evaluation of the lipid stability of the meat, it was observed that the fresh and stored meat from birds fed with the different combinations of AnCa + AC presented better values compared to the negative control treatment. There was no significant difference between treatments for bone parameters and the incidence of black bone syndrome. It is concluded that the concentration of blood uric acid in chickens up to 21 days old reduces with the addition of calcium anacardate and citric acid at all levels tested. Thus, feed intake and weight gain decrease with the addition

of combinations of 0.50 % AnCa and 0.25% AC; 0.50% AnCa and 0.50% AC; 0.75% AnCa and 0.25% AC; 0.75% AnCa and 0.50% AC and 0.75% AnCa and 0.75% AC. However, when considering the total rearing period, the addition of 0.50% AnCa + 0.50% AC can be recommended due to this combination improves the oxidative state in the blood and liver of chickens at 42 days of age and food conversion. The combination of 0.50% AnCa + 0.50% CA was also sufficient to obtain the benefits of improving the concentration of phenolic compounds, activity and antioxidant capacity of fresh meat and reduction in lipid oxidation of fresh and meat stored for 60 days. Growth and bone quality and the incidence of black bone syndrome are not altered with the addition of up to 0.75% calcium anacardate in association with 0.75% citric acid.

Keywords: antioxidant; anacardic acid; organic acid; performance.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Princípios ativos e seus principais efeitos biológicos em pesquisas com frangos de corte (continua).....	23
Tabela 2- Composições, níveis nutricionais e energéticos calculados das rações experimentais controle negativo para frangos de corte nas diferentes fases de criação	47
Tabela 3- Parâmetros hematológicos de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico.....	53
Tabela 4- Parâmetros bioquímicos do sangue de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico	55
Tabela 5- pH do conteúdo dos diferentes segmentos do trato gastrointestinal de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico.....	57
Tabela 6- Peso relativo do fígado, moela e de seguimentos do intestino de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico.....	59
Tabela 7- Status oxidativo do sangue e do fígado de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico	60
Tabela 8-Desempenho dos frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico	63
Tabela 9- Características de carcaça de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico.....	65
Tabela 10- Composições, níveis nutricionais e energéticos calculados das rações experimentais controle negativo para frangos de corte	73
Tabela 11- Qualidade de carne de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico.....	78
Tabela 12- Compostos fenólicos, capacidade e atividade antioxidante e oxidação lipídica da carne de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico	79
Tabela 13-, Níveis nutricionais e energéticos calculados das rações experimentais controle negativo para frangos de corte.....	89
Tabela 14- Parâmetros de crescimento e qualidade óssea determinados em fêmur de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico.....	92
Tabela 15- Número e incidência de amostras por escores de coloração da carne das coxas de frangos de corte alimentados com ração contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico	94

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	Saúde intestinal de frangos de corte	16
2.2	Estresse oxidativo e distúrbios metabólicos em frangos de corte.....	18
2.3	Sistema de defesa antioxidante.....	19
2.4	Aditivos fitogênicos.....	20
2.4.1	<i>Ação antimicrobiana de fitogênicos.....</i>	<i>25</i>
2.4.2	<i>Ação antioxidante de fitogênicos</i>	<i>26</i>
2.4.3	<i>Aditivos fitogênicos no desempenho de frangos de corte.....</i>	<i>28</i>
2.5	Ácido anacárdico	29
2.5.1	<i>Efeitos do ácido anacárdico</i>	<i>30</i>
2.5.2	<i>Fontes de ácidos anacárdicos e seus efeitos na produção animal.....</i>	<i>31</i>
2.6	Ácidos orgânicos	32
2.6.1	<i>Efeitos dos ácidos orgânicos na dieta de aves</i>	<i>33</i>
2.6.2	<i>Absorção de ácidos orgânicos</i>	<i>34</i>
2.6.3	<i>Ação antimicrobiana de ácidos orgânicos.....</i>	<i>35</i>
2.6.4	<i>Ácidos orgânicos na ração de frangos de corte.....</i>	<i>36</i>
2.7	Ácido cítrico	37
3	ANACARDATO DE CÁLCIO EM ASSOCIAÇÃO COM ÁCIDO CÍTRICO NA RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE: DESEMPENHO, PARÂMETROS SANGUÍNEOS E STATUS OXIDATIVO DO SANGUE E FÍGADO	39
3.1	Introdução	43
3.2	Material e métodos	44
3.2.1	<i>Produção do anacardato de cálcio.....</i>	<i>44</i>
3.2.2	<i>Delineamento experimental, tratamentos e manejo das aves</i>	<i>46</i>
3.2.3	<i>Parâmetros sanguíneos</i>	<i>48</i>
3.2.4	<i>pH do conteúdo e desenvolvimento dos seguimentos do trato gastrointestinal</i>	<i>49</i>
3.2.5	<i>Status oxidativo do sangue e fígado.....</i>	<i>49</i>
3.2.6	<i>Desempenho produtivo.....</i>	<i>50</i>
3.2.7	<i>Características de carcaça.....</i>	<i>51</i>
3.2.8	<i>Análise estatística.....</i>	<i>51</i>
3.3	Resultados e discussão.....	52
3.3.1	<i>Parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue.....</i>	<i>52</i>

3.3.2	<i>pH do conteúdo e peso relativo de órgãos e segmento do trato digestório</i>	56
3.3.3	<i>Status oxidativo do sangue e fígado</i>	59
3.3.4	<i>Desempenho produtivo</i>	61
3.3.5	<i>Características de carcaça</i>	64
3.4	Conclusão	66
4	ANACARDATO DE CÁLCIO E ÁCIDO CÍTRICO NA RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE: COMPOSTOS FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ESTABILIDADE LIPÍDICA E QUALIDADE DA CARNE	67
4.1	Introdução	69
4.2	Material e métodos	70
4.2.1	<i>Produção do anacardato de cálcio</i>	70
4.2.2	<i>localização, delineamento, tratamentos, manejo e abate das aves</i>	72
4.2.3	<i>Parâmetros de qualidade da carne</i>	74
4.2.4	<i>Compostos fenólicos, potencial e atividade antioxidante e estabilidade lipídica da carne</i>	75
4.2.5	<i>Análise estatística</i>	76
4.3	Resultados e discussão	77
4.3.1	<i>Parâmetros de qualidade da carne</i>	77
4.3.2	<i>Compostos fenólicos, potencial e atividade antioxidante e estabilidade lipídica da carne</i>	78
4.4	Conclusão	81
5	PARÂMETROS ÓSSEOS E INCIDÊNCIA DA SÍNDROME DO OSSO NEGRO EM FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM ANACARDATO DE CÁLCIO E ÁCIDO CÍTRICO	82
5.1	Introdução	84
5.2	Material e métodos	86
5.2.1	<i>Produção do anacardato de cálcio</i>	86
5.2.2	<i>localização, delineamento, tratamentos e manejo das aves</i>	87
5.2.3	<i>Parâmetros de crescimento e qualidade óssea</i>	89
5.2.4	<i>Incidência da síndrome do osso negro</i>	90
5.2.5	<i>Análise estatística</i>	90
5.3	Resultados e discussão	92
5.3.1	<i>Parâmetros de crescimento e qualidade óssea</i>	92
5.3.2	<i>Incidência da síndrome do osso negro</i>	94
5.4	Conclusão	96
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	97

REFERÊNCIAS	99
--------------------------	-----------

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Um grande aumento na eficiência da produção de frangos de corte foi alcançado através da seleção genética intencional utilizando técnicas quantitativas tradicionais (HUNTON, 2006), associada aos avanços científicos nas áreas de nutrição, sanidade e manejo (WEIMER *et al.*, 2022).

Ao avaliar a evolução na produção de frangos de corte de 1957 a 2005, houve uma redução de 50% na conversão alimentar (ZUIDHOF *et al.*, 2014). Por outro lado, a seleção para alto desempenho associado à intensificação na produção de aves, aumentando a eficiência de produção principalmente associado ao maior metabolismo, aumenta a sensibilidade a variações no ambiente de criação, erros nutricionais devido aos ingredientes da ração (LEESON, 2007), desafios sanitários (FASCINA *et al.*, 2012), e conseqüentemente, levando a situações de reduções no desempenho, incluindo defeitos esqueléticos aumentados (RATH *et al.*, 2000; ZUIDHOF *et al.*, 2014) e distúrbios metabólicos (OLKOWSKI, 2007).

Com isso, aumentou o uso de antibióticos promotores de crescimento, visando melhor controlar bactérias patogênicas, visto o impacto da saúde intestinal na produção animal, pois o trato gastrointestinal (TGI) tem funções digestivas, absorptivas, metabólicas, imunológicas e endocrinológicas (SVIHUS, 2014). Logo, as injúrias da saúde intestinal podem afetar de uma a várias funções sistêmicas (OVIDEO-RONDÓN, 2019), acarretando em perdas de desempenho animal (ABD EL-HACK *et al.*, 2022b).

No entanto, devido à presença de resíduos de antibióticos em produtos avícolas e ao aumento no surgimento de bactérias resistentes a antibióticos, a União Europeia proibiu, no ano de 2006, o uso dos antibióticos como promotores de crescimento na produção de aves (NAMDEO *et al.*, 2020). Na produção brasileira para consumo interno, vários antibióticos também não são mais aceitos como promotores de crescimento (MAPA, 2020).

Assim, várias pesquisas têm sido realizadas, avaliando aditivos alternativos aos antibióticos promotores de crescimento, como fitogênicos, ácidos orgânicos, probióticos e prebióticos com resultados semelhantes e/ou melhores aos antibióticos promotores de crescimento.

O ácido anacárdico, composto fenólico encontrado em diversas partes da planta cajueiro (*Anacardium occidentale L.*), e em maiores concentrações no fruto, tem propriedades importantes que podem contribuir como uma alternativa aos antibióticos promotores de crescimento. Existe uma vasta literatura comprovando seu efeito antioxidante e antibacteriano (ANDRADE *et al.*, 2011; HOLLANDS *et al.*, 2016) além de outros efeitos. Algumas pesquisas

já foram realizadas com animais utilizando diferentes fontes de ácidos anacárdicos, como Líquido da casca da castanha de caju-LCC (BRAZ *et al.*, 2017; BRAZ *et al.*, 2019) e anacardato de cálcio (MATOS *et al.*, 2017; FERREIRA *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2022; FREITAS *et al.*, 2022).

O valor pKa do AnCa está entre 4 e 5, portanto, o pH luminal deve ser inferior a 4 para que ocorra a dissociação (FERREIRA *et al.*, 2020). Caso não ocorra a completa dissociação, pode-se reduzir os possíveis efeitos do ácido anacárdico. Assim, potencializar a redução no pH intestinal, pode corroborar para melhor disponibilidade e conseqüentemente ação do ácido anacárdico. Além disso, sabe-se que os benefícios podem ser potencializados quando se faz combinação de aditivos, por exemplo, combinando com o ácido cítrico.

O ácido cítrico é um ácido orgânico fraco, substância intermediária no metabolismo oxidativo e rapidamente metabolizado em gás carbônico e água após a ingestão (MELAKU *et al.*, 2021). É muito utilizado com efeitos comprovados de redução do pH, pois cria uma condição ácida no estômago, que impede o crescimento de bactérias patogênicas intolerantes a ácidos no TGI de aves (CHOWDHURY *et al.*, 2009), além de melhorar a morfologia intestinal (DEMIREL *et al.*, 2016), e promover efeitos positivos sobre o sistema imune das aves (ISLAM, 2012; WASEEM *et al.*, 2016). Assim, existem pesquisas sobre o efeito individual do anacardato de cálcio e ácido cítrico em espécies avícolas. No entanto, não há pesquisas sobre os efeitos combinados de anacardato de cálcio e ácido cítrico em frangos de corte.

Dessa forma, objetivou-se avaliar a combinação de anacardato de cálcio e ácido cítrico sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue, sistema digestivo, desempenho, características de carcaça, oxidação lipídica do soro sanguíneo e fígado, parâmetros de qualidade da carne *in natura*, concentração de compostos fenólicos da carne *in natura*, potencial e atividade antioxidante da carne *in natura*, oxidação lipídica da carne *in natura* e armazenada, parâmetros ósseos e a incidência da síndrome do osso negro em frangos de corte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Saúde intestinal de frangos de corte

A saúde intestinal é necessária para manter a fisiologia do TGI eficiente e sustentável (CHOCT, 2009). Intestinos saudáveis são essenciais para otimizar a digestibilidade, minimizar a excreção de nutrientes e, conseqüentemente, mitigar os impactos ambientais da amônia, e outras emissões de gases com impactos na saúde e no bem-estar (COSTA *et al.*, 2008).

A utilização de antibióticos em doses sub-terapêuticas na produção animal começou na década de 1940, sendo uma estratégia para melhoria na condição de saúde e integridade intestinal (HASHEMI; DAVOODI, 2010), prevenindo infecções ao eliminar bactérias patogênicas e assim, favorecendo o crescimento e a conversão alimentar por mais de 60 anos (CASTANON, 2007).

Contudo, existem algumas desvantagens e desafios com a utilização de antibióticos na ração animal. O uso excessivo de antibióticos na produção de aves pode resultar em resíduos de antibióticos no corpo animal e produtos gerados, bem como surgimento de microrganismos resistentes a antibióticos, o que pode causar sérias conseqüências no desempenho da produção e segurança alimentar (CHEN *et al.*, 2023). Estudos mostram que pode existir relação entre o uso de antibióticos em doses subterapêuticas na produção animal e o desenvolvimento de resistência antimicrobiana em humanos (COSBY *et al.*, 2015).

Dibner e Richards (2005), relataram que a utilização de antibióticos como promotores de crescimento poderia se tornar economicamente impraticável devido às exigências dos países importadores. Na realidade atual, para exportação é realizada a produção de frangos livre de antibióticos promotores de crescimento de acordo com a exigência dos países exportadores (MAPA, 2023).

A demanda por produtos produzidos sem antibióticos promotores de crescimento, aumentou. Um exemplo disso é a demanda por alimentos orgânicos que superou a oferta nos últimos anos, os varejistas dos EUA importaram vários bilhões de dólares em alimentos orgânicos para o mercado americano (CRANDALL *et al.*, 2009). As carnes oriundas de sistemas orgânicos são bem aceitas pelos consumidores (PONNAMPALAM *et al.*, 2019). No entanto, mesmo com 9 milhões de frangos de corte certificados (NASS, NASS 2010), a indústria não tem atendido à crescente demanda por frango orgânico. De acordo com o estudo de mercado da Fact.MR (2023), o mercado global de frango orgânico atingiu US\$ 3,22 bilhões

em 2022, e prevê-se que as vendas mundiais de frango orgânico atinjam um valor de mercado de 14,5 bilhões de dólares até 2033. Os consumidores de alimentos orgânicos geralmente tendem a perceber os produtos como alternativas mais seguras devido a menor ou não adição de conservantes químicos e os escolhem para suas famílias (ABD EL-HACK, *et al.*, 2022a). Isso ressalta a grande oportunidade para o crescimento do setor de aves criadas livres de antibióticos (WAN *et al.*, 2019).

No mercado interno também tem aumentado a demanda por frangos produzidos sem a utilização de antibióticos promotores de crescimento. São exemplos dessa demanda, o maior número de adeptos do frango criado em sistema semi-intensivo e frango orgânico. Para garantir que esses produtos sejam produzidos dentro das normas existem empresas certificadoras, responsáveis por fiscalizar, rastrear o processo de produção e certificar (WQS, 2023).

Os antibióticos tilosina, lincomicina, e tiamulina, classificados como importantes na medicina humana são proibidos como promotores de crescimento, conforme Instrução Normativa SDA Nº 1 DE 13/01/2020 (MAPA, 2020).

Portanto, há um interesse crescente dos nutricionistas animais pelo uso de promotores de crescimento alternativos. Nas duas últimas décadas, muitas pesquisas têm se concentrado no desenvolvimento de alternativas a antibióticos para manter ou melhorar a saúde e desempenho das aves (GADDET *et al.*, 2017). Um produto substituto deve ter efeito benéfico semelhante aos dos antibióticos, utilizados em doses sub-terapêuticas (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMENSEEL, 2011), ou efeito superior garantindo o desempenho animal. Os antibióticos promotores de crescimento têm ação moduladora da microbiota intestinal e do sistema imune das aves (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMENSEEL, 2011). Deste modo, uma alternativa deve possuir estas propriedades favoráveis ao desempenho animal.

Muitas pesquisas têm sido realizadas com produtos de diferentes ações, probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, enzimas e fitogênicos (GADDET *et al.*, 2017; ABD EL-GHANY *et al.*, 2021). São verificados muitos efeitos benéficos nos testes realizados, porém os resultados variam muito entre as diferentes pesquisas. Assim é necessário entender o mecanismo de ação, identificando meios de padronizar os efeitos, melhorando métodos de entrega como microencapsulação e podendo desta maneira aumentar a eficácia *in vivo*. Além disso, o potencial benefício da combinação de produtos pode ser maior do que usá-los isoladamente, podendo ter efeito semelhante ou superior aos dos antibióticos promotores de crescimento (GADDET *et al.*, 2017).

Os probióticos são espécies de microrganismos benéficos que podem colonizar o intestino dos animais enquanto os prebióticos são oligossacarídeos indigeríveis que podem ser

utilizados pelos microrganismos intestinais benéficos (KULSHRESHTHA *et al.*, 2014; MURATE *et al.*, 2015). Enzimas exógenas como carboidrases e proteases são usados para aumentar a digestibilidade do alimento no intestino (SHARMA *et al.*, 2005).

Aditivos fitogênicos são compostos derivados de plantas, que se destacam por possuírem diferentes mecanismos de ação (ISLAM *et al.*, 2023), como no caso do ácido anacárdico que possui atividade antioxidante e antibacteriana comprovadas (TOYOMIZU *et al.* 2003; TREVISAN *et al.* 2006). Estes aditivos podem ser extratos de ervas, óleos essenciais, ou partes de plantas (folhas, rizomas, raízes, flores, cascas ou, menos comumente, sementes) com maior acúmulo de substâncias bioativas (ABDELNOUR *et al.*, 2020; OGBUEWU *et al.*, 2020; KRAUZE, *et al.*, 2021).

Vários produtos fitogênicos (derivados de canela, gengibre, pimenta, açafrão, alecrim, orégano, tomilho, sálvia, frutas cítricas, pimenta etc.) afetam positivamente o desempenho das aves e saúde devido às suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, propriedades imunológicas e de modulação intestinal (YAKHKESHI *et al.*, 2011; ABD EL-HACK *et al.*, 2021; PUVACA *et al.*, 2013; ASHOUR *et al.*, 2021). Além de aumentar a secreção de enzimas digestivas (PANDEY *et al.*, 2019), contribuindo para melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta.

2.2 Estresse oxidativo e distúrbios metabólicos em frangos de corte

Estresse oxidativo refere-se ao estado de desequilíbrio em que a produção de agentes oxidantes ultrapassa a capacidade antioxidante. Assim, a superprodução de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, tais como o ânion superóxido (O_2^-), o ânion peroxinítrito ($ONOO^-$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o óxido nítrico (NO) e o radical hidroxila (OH^\cdot) podem culminar em processos de morte celular por necrose ou apoptose, por meio da interação com lipídeos, proteínas e ácido desoxirribonucleico (DNA) (MACCIONI *et al.*, 2001).

A oxidação lipídica e a formação de radicais livres são processos naturais que quebram a estrutura da membrana, interrompem os processos de transporte e causam disfunção de organelas celulares (ABD EL-HACK *et al.* 2022b). Nas membranas celulares, os fosfolipídios são significativamente mais suscetíveis a danos devido à oxidação que corresponde com o grau de insaturação de ácidos graxos. Por outro lado, ácidos graxos poli-insaturados possibilitam propriedades importantes da membrana celular, como permeabilidade e fluidez (PISOSCHI; POP, 2015).

As espécies reativas em quantidades normais podem ser inativadas espontaneamente pelos sistemas de defesa antioxidante extracelular ou intracelular. Contudo, espécies reativas em excesso podem reagir com as moléculas do organismo, interferindo nos processos biológicos, causando alterações que podem levar a redução do sistema imunológico, aumento na incidência de doenças, mutações, envelhecimento acelerado (ANDRADE JR. *et al.*, 2005) e favorecer a incidência de distúrbios metabólicos como síndrome ascítica, discondroplasia tibial e síndrome da morte súbita, sendo as enfermidades metabólicas relacionadas a uma predisposição genética, nutricional e ou ambiental (GONZÁLES *et al.*, 2020).

Segundo Kirkham e Rahman (2006), as espécies reativas em excesso reagem com os ácidos graxos poli-insaturados dos fosfolipídios das membranas celulares, desintegrando-as e permitindo a entrada de espécies reativas nas estruturas intracelulares, processo denominado de peroxidação de lipídios. A peroxidação lipídica é uma reação em cadeia formando muitos peróxidos lipídicos nocivos. Como consequência as membranas celulares podem ter sua funcionalidade e estrutura alterados, uma vez que as reações podem causar a ruptura das membranas celulares com liberação de organelas, levando a inativação de receptores e enzimas, o aumento da permeabilidade tissular, as mutações do DNA, o comprometimento da matriz extracelular, proteoglicanos, colágeno e elastina, e formação de resíduos químicos intracelulares (KIRKHAM; RAHMAN, 2006).

2.3 Sistema de defesa antioxidante

O sistema de defesa antioxidante divide-se em enzimático e não enzimático. O sistema enzimático inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) que atuam de forma a manter o equilíbrio da quantidade de radicais livres no organismo. O sistema não enzimático é constituído por substâncias antioxidantes, que podem ter origem endógena ou dietética (HE *et al.*, 2017; SURAI; KOCHISH, 2019).

Os antioxidantes podem atuar como barreiras físicas para prevenir a geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou o acesso a sítios biológicos importantes; atuando como armadilhas químicas que “absorvem” energia e elétrons, extinguindo ERO; sistemas catalíticos que neutralizam ou desviam ERO, como as enzimas antioxidantes SOD (superóxido dismutase), catalase e glutathione peroxidase; ligação/inativação de íons metálicos para prevenir a geração de ERO (ferritina, ceruloplasmina, catequinas); e antioxidantes de quebra de cadeia que eliminam e destroem ERO (ácido ascórbico, tocoferóis, ácido úrico, glutathione, flavonoides) (KARADAG *et al.*, 2009).

Assim, de acordo com o modo de ação, os antioxidantes podem ser classificados como primários, secundários ou coantioxidantes. Os antioxidantes primários são capazes de doar um átomo de hidrogênio rapidamente para um radical lipídico, formando um novo radical, mais estável. Antioxidantes secundários reagem com os radicais iniciadores (ou inibem as enzimas iniciadoras), ou reduzem o nível de oxigênio (sem gerar espécies radicais reativas). Portanto, esses antioxidantes secundários podem retardar a taxa de reação de iniciação radical pela eliminação de iniciadores. Isso pode ser feito desativando espécies de alta energia; absorção de luz UV; metal quelante que catalisa a reação de radicais livres, ou enzimas peroxidases como NADPH oxidase, xantina oxidase, entre outras enzimas oxidativas (SINGH; SINGH, 2008). Antioxidantes sintéticos são usados para retardar a peroxidação lipídica, no entanto, seu uso foi debatido por causa de seus efeitos cancerígenos. Devido aos efeitos negativos desses antioxidantes sintéticos, os consumidores tornaram-se mais interessados em fontes naturais de antioxidantes (HASHEMIPOUR *et al.*, 2013).

2.4 Aditivos fitogênicos

Os vegetais produzem metabólitos primários como açúcares, aminoácidos e ácidos graxos. Além disso, são capazes de produzir metabólitos secundários que não são necessariamente essenciais ao organismo, mas desempenham diferentes funções, que garantem vantagens na sobrevivência e perpetuação da espécie no ecossistema (UPADHYAY *et al.*, 2014). Metabólitos secundários de plantas ou fitoquímicos são compostos orgânicos bioativos produzidos pelas plantas durante seu metabolismo normal e podem ou não ter valor nutricional (HASHEMI; DAVOODI, 2010). Muitos compostos têm atividades antioxidantes além de outras propriedades benéficas, como anti-inflamatório, imunomodulador e atividade antimicrobiana (MAHFUZ *et al.*, 2021).

Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Os terpenos são sintetizados a partir da acetil-CoA, via rota do ácido mevalônico, ou via rota do metileritritol fosfato. Os compostos fenólicos são biossintetizados a partir de duas rotas principais, do ácido chiquímico e do ácido malônico e os compostos nitrogenados são sintetizados a partir dos aminoácidos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os compostos fenólicos não fornecem energia para o organismo animal, mas possuem vários benefícios à saúde por meio de muitas atividades biológicas, como antioxidante e anti-inflamatório. De acordo com a regulamentação da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), um grupo hidroxila em um anel benzeno ou outro anel de areno é definido

como "fenol" (ZHANG *et al.*, 2021). Os compostos fenólicos são um grupo diversificado de metabólitos secundários aromáticos envolvidos na defesa vegetal. Eles consistem em ácidos fenólicos, flavonoides, taninos e cumarinas (SAVOIA, 2012).

Assim, aditivos fitogênicos são compostos bioativos naturais que são derivados de plantas e incorporados na ração animal para aumentar a produtividade (WINDISCH *et al.*, 2008), ou para manter dentro dos níveis desejados equivalentes ao uso de antibióticos promotores de crescimento.

Os aditivos fitogênicos podem melhorar a qualidade da ração devido às propriedades antioxidantes, antimicrobinas e inibição do crescimento fúngico, contribuindo para um intestino saudável e melhor desempenho (ALCICEK *et al.*, 2004; BURT, 2004).

Uma grande variedade de plantas é utilizada para produzir fitogênicos, sendo que geralmente para cada espécie existe a parte que é mais utilizada para extração dos compostos de interesse. Podendo ser utilizados folhas, flores, sementes, frutos, casca ou raiz (WINDISCH *et al.*, 2008). Hashemi e Davoodi (2011) dividem os aditivos fitogênicos em quatro subgrupos: 1- ervas (produto da floração, não lenhoso e de plantas não persistentes). 2- plantas (planta inteira processada ou partes, 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).

Vale ressaltar que também são utilizados resíduos do processamento de frutos (FREITAS *et al.*, 2015), reduzindo o risco de impacto ambiental. Fitogênicos podem ser usados na forma sólida, seca e triturada ou como extratos (bruto ou concentrado). Nos últimos anos, os aditivos fitogênicos têm sido testados como promotores de crescimento na produção de aves (GADDET *et al.*, 2017).

Na dependência da concentração do princípio ativo principal, os extratos vegetais possuem uma ou mais atividades biológicas, entre elas ação inseticida, antihelmíntica, antiviral, antifúngica, antimicrobiana, anticoccidiana, pró-digestiva, antioxidante, além de hipolipidêmicos e imunomoduladores (CEYLAN; FUNG 2004; ABD EL-HACK *et al.*, 2021).

Os principais compostos fitogênicos são os polifenóis e sua composição e concentração variam de acordo com a planta, partes da planta, origem geográfica, época de colheita, fatores ambientais, condições de armazenamento e técnicas de processamento (WINDISCH *et al.*, 2008; HASHEMI; DAVOODI, 2011).

Os flavonoides são uma importante classe de compostos fenólicos podendo ser classificados em antocianinas, chalconas, diidrochalconas, diidroflavonóis, flavonoides, flavanonas, flavonas, flavonóis e isoflavonoides (ZHANG *et al.*, 2021).

Os ácidos fenólicos também constituem o grupo dos compostos fenólicos no subgrupo dos compostos não flavonoides (ABDEL-MONEIM *et al.*, 2020). Caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos como para o organismo, sendo, por isso, indicados para prevenção e tratamento de diversas doenças (KERRY; ABBEY, 1997), onde estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídios) e proteínas (CROFT, 1998).

Os ácidos fenólicos são os principais constituintes em especiarias e ervas (por exemplo, ácido gálico, ácido cafeico e ácido rosmarínico) e óleos voláteis (por exemplo, eugenol, carvacrol, timol, mentol) (BREWER, 2011). Além dos ácidos p-cumárico, cafeico, ferúlico e sinápico (ZHANG *et al.*, 2021). Outros compostos fenólicos têm sido estudados e têm sido verificados efeitos positivos na saúde animal como a mangiferina e o ácido anacárdico (FARIAS *et al.*, 2020; FREITAS *et al.*, 2022).

Vários estudos demonstraram atividade antimicrobiana, atividade antioxidante, além de outros efeitos de extratos de plantas, incluindo orégano (carvacrol), tomilho (timol), cravo (eugenol), mostarda (alisotiocianato), canela (cinamaldeído), alho (alicina), alecrim, manjerona, gengibre, chá verde, cominho preto, coentro, resíduo de manga (mangiferina) casca castanha de caju (ácido anacardato) (HASHEMIPOUR *et al.*, 2013; BRAZ *et al.*, 2017; GADDET *et al.*, 2017; FARIAS *et al.*, 2021; FREITAS *et al.*, 2022).

As substâncias químicas mais estudadas e suas principais atividades biológicas observadas em pesquisas com frangos de corte estão listadas na tabela 1.

Tabela 1- Princípios ativos e seus principais efeitos biológicos em pesquisas com frangos de corte (continua)

Nome popular	Gênero/espécie	Princípio /extrato	Modo de ação	Referências
Açafrão da Índia	<i>Curcuma zedoaria longa</i>	Curcumina	Antioxidante; anti-inflamatório; Menor nível corticosterona em estresse térmico	Zhang <i>et al.</i> (2018)
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	Ácido rosmarínico, ácido carnósico	Antioxidante, Anti-inflamatória, antimicrobiano	Nameghi <i>et al.</i> (2023)
Alho	<i>Allium sativum</i>	Alicina	Antibacteriano; hipocolesterolênico; antioxidante	Kirkpinar <i>et al.</i> (2011); CHOI <i>et al.</i> (2010)
Bocônia	<i>Macleaya cordata</i>	Sanguinarina	Antibacteriano; anti-inflamatório; melhora morfologia intestinal	XUE <i>et al.</i> (2018)
Cajueiro	<i>Anacardium occidentale</i>	Ácido anacádico, cardol, cardanol	Antioxidante, antimicrobiano, Anti-inflamatória, antitumoral	Toyomizu <i>et al.</i> (2003); Freitas <i>et al.</i> (2022)
Canela	<i>Cinnamomum spp</i>	Cinaladeído; Eugenol; Linalol	Antioxidante; Antibacteriano; Aumento das vilosidades duodeno e jejuno	Chowdhury <i>et al.</i> (2018)
Chá verde	<i>Camellia sinensis L.</i>	Epigallocatechin gallate (EGCG)	Antioxidante; anti-inflamatório; Melhor ganho de peso em estresse térmico	Luo <i>et al.</i> (2018)
Cominho preto	<i>Nigella sativa</i>	p-cimeno, timoquinona; carvacrol; timol	Antioxidante; anti-inflamatória; antibacteriana; imunoestimulante	Raheem <i>et al.</i> (2021)
Cravo	<i>Syzygium spp</i>	Eugenol	Antioxidante; antibacteriano; redução colesterol	Chowdhury <i>et al.</i> (2018); ISLAM <i>et al.</i> (2023)
Ginseng	<i>Panax ginseng</i>	ginsenosídeos	Antioxidante; anti-inflamatório	Seong <i>et al.</i> (2015)
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i>	Gingerol; geraniol	Antioxidante; antimicrobiano; estimulante da digestão; hipocolesterolêmico	Habibi <i>et al.</i> (2014); Zhao <i>et al.</i> (2011)

Tabela 1- Princípios ativos e seus principais efeitos biológicos em pesquisas com frangos de corte (continuação)

Nome popular	Gênero/espécie	Princípio /extrato	Modo de ação	Referências
Manjeriço/ Tulci	<i>Ocimum sanctum</i>	Eugenol; linalol; ácido labiático	Antimicrobianos; anti-inflamatórios; imunomoduladores; hipoglicêmicos; analgésicos	Islam <i>et al.</i> (2023)
Moringa	<i>Moringa oleifera</i>	Quercetina; Kaempferol; Ácido beénico	Antioxidante, antimicrobiano, melhora morfologia intestinal	Moreno-Mendoza <i>et al.</i> (2021); Abd El-Hack <i>et al.</i> , (2022c)
Nogueira-do-japão	<i>Ginkgo biloba</i>	ginkgolide	Antioxidante; estimulante digestão	Niu <i>et al.</i> (2018)
Óregano	<i>Origanum vulgare L.</i>	Carvacrol; timol	Antioxidante; Antibacteriano; Melhora morfologia intestinal	Kirkpinar <i>et al.</i> (2011); Zhang <i>et al.</i> (2021)
Tochu	<i>Eucommia ulmoides</i>	ácido clorogênico	Antioxidante; melhor conversão alimentar em estresse térmico	Zhao; Deng; Liu, (2019)
Pimenta vermelha	<i>Capsicum ssp</i>	capsaicina	Antioxidante; anti-inflamatório; antialérgico	Abd El-Hack <i>et al.</i> (2022d)
Salvia	<i>Salvia spp</i>	Cineol, pipeno	Antioxidante; melhora morfologia intestinal	Bahadoran <i>et al.</i> (2022)
Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	Licopeno	Antioxidante; anti-inflamatório; imunomodulador	Sahin <i>et al.</i> (2016)
Tomilho	<i>Thymus vulgaris L.</i>	Timol;carvacrol	Antioxidante; antibacteriana; estimulante digestão	Luna <i>et al.</i> (2010)
Uva	<i>Vitis vinifera</i>	Resveratrol; epicatequinas	Antioxidante; antimicrobiano; anti-inflamatório	Zhang <i>et al.</i> (2017)

2.4.1 Ação antimicrobiana de fitogênicos

Fitogênicos contêm muitos grupos químicos ativos, suas atividades antimicrobianas podem ser devido a muitos mecanismos diferentes. Isso é uma característica que reduz significativamente a probabilidade das bactérias desenvolverem resistência a esses aditivos (BURT, 2004).

O equilíbrio entre microflora benéfica e patógenos no intestino é muito importante na digestão e absorção de nutrientes (KROCKO *et al.*, 2012). *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Clostridium perfringens* são os 3 principais patógenos encontrados no intestino das aves (LA RAGIONE *et al.*, 2004).

Entre os mecanismos de ação de fitogênicos, pode-se citar, quelação de metais por flavonoides e fenóis, interrupção da membrana celular por fenólicos e terpenoides, e dano do material genético por alcaloides e cumarina que podem assim impedir o crescimento de microrganismos (COWAN, 1999). Alguns compostos fitogênicos conseguem atravessar a parede celular por difusão através das proteínas de membrana (DORMAN; DEANS, 2000) ou devido a hidrofobicidade atravessam a parede celular bacteriana através da camada de lipopolissacarídeos (LI *et al.*, 2015), além de se acumularem na camada lipídica, interrompendo assim a integridade da membrana celular e o transporte de íons; resultando na perda subsequente de componentes celulares e lise de células bacterianas (BURT, 2004). Os fitogênicos ao atravessarem a membrana podem causar acidificação dentro da célula, bloqueando a produção de energia celular, causando colapso da bomba de prótons, e redução do potencial de membrana (BURT, 2004).

Assim, a hidrofobicidade e a capacidade dos fitogênicos de penetrar na membrana das células bacterianas contendo lipídios e suas atividades antimicrobianas são características importantes que são responsáveis pela eficácia em dietas de aves (SMITH-PALMER *et al.*, 2004).

Vários fitogênicos mostraram inibir a emergência de patógenos em aves (MICCICHE *et al.*, 2019). Por exemplo, dietas suplementadas com curcumina, carvacrol, piperina, timol e eugenol, reduziram *C. perfringens* no intestino de galinha (ABD ELHACK *et al.*, 2021). Óleo essencial de capim-limão (*Citrus hystrix*) apresentou propriedades antifúngicas contra leveduras patogênicas, como *Candida albicans* (JUNIATIK *et al.*, 2017). Mistura comercial de óleos essenciais, timol, eugenol e piperina exibem ações potenciais contra *C. perfringens*, *E. coli* (JANG *et al.*, 2007) e *Campylobacter spp.* (KELLY *et al.*, 2017), que habitam o sistema digestivo de frangos de corte (WINDISCH *et al.*, 2008).

Kollanoor-Johny *et al.* (2010) avaliaram a eficácia *in vitro* de vários compostos, incluindo trans-cinamaldeído, eugenol, timol e carvacrol, contra *Salmonella spp* e *Campylobacter spp* em frangos de corte e poedeiras usando um meio cecal modificado. Verificou-se redução de *S. enteritidis* e *Campylobacter spp*. demonstrando que esses compostos foram bactericidas contra ambos os patógenos, sendo o trans-cinamaldeído e o eugenol os mais eficazes.

Kollanoor-Johny *et al.* (2012) estudaram a eficácia antibacteriana de trans-cinamaldeído e eugenol na redução de *S. enteritidis* em frangos de corte. Testaram dietas com trans-cinamaldeído a 0,75% e eugenol a 1% como aditivo antimicrobiano na ração por 5 dias antes do abate. Ambos os compostos reduziram a colonização de *S. enteritidis*. Em particular, o trans-cinamaldeído afeta negativamente a absorção de glicose e a síntese de adenosina trifosfato (ATP). Outro modo de ação dos óleos essenciais é a inibição das principais enzimas bacterianas, como amino descarboxilases ácidas (ARSI *et al.*, 2014). Kirkpinar *et al.* (2011) ao suplementar óleos essenciais de alho e orégano verificaram redução na população de *clostridium spp*. em comparação com a dieta basal de frangos de corte.

Timol e cinamaldeído têm propriedades antibacterianas seletivas e inibem o crescimento de fungos, com efeito benéfico sobre o TGI, gerenciando patógenos, reduzindo o estresse induzido por doenças oxidativas, e estabilizando a microbiota intestinal (BENTO *et al.*, 2013).

Chowdhury *et al.* (2018) estudaram o impacto dos óleos essenciais de canela e cravo a 300, 400 e 600 mg/kg de dieta, respectivamente, como substituto do antibiótico para estimar seu efeito no intestino de frangos de corte, verificaram redução nas contagens de *E. coli* e *Clostridium spp* pré-cecal.

2.4.2 Ação antioxidante de fitogênicos

Várias pesquisas fornecem evidências convincentes que substâncias antioxidantes têm função importante na redução do risco de doenças (KUBO *et al.*, 2006). Na produção animal, a adição de substâncias antioxidantes é muito importante para auxiliar no equilíbrio oxidativo, que junto com outros fatores reflete no equilíbrio de parâmetros sanguíneos, metabólicos, microbiológicos etc., tornando a produção mais eficiente em desempenho. Antioxidantes isolados de resíduos da agroindústria alimentar tem efeito positivo na qualidade da carne, como a mangiferina encontrada no resíduo do processamento da manga (casca e

caroço) (MELO *et al.*, 2020; FARIAS *et al.*, 2021), ou o ácido anacárdico extraído da casca da castanha de caju (FREITAS *et al.*, 2022).

Além disso, a peroxidação lipídica é um dos principais fatores na deterioração durante o armazenamento e processamento de alimentos, pois pode levar ao desenvolvimento de sabores rançosos ou estranhos, também como produtos finais potencialmente tóxicos (GRECHKIN, 1998). Logo, substâncias antioxidantes podem interferir no desempenho dos animais e na qualidade dos alimentos armazenados. E a segurança é uma consideração primária para uso de antioxidantes em produtos alimentícios, que podem ser utilizados em quantidades não regulamentadas (HA; KUBO, 2005).

Tem sido sugerido que uma dieta rica em antioxidantes de origem natural pode trazer benefícios à saúde e muitas pesquisas têm sido direcionadas para avaliar a capacidade antioxidante de produtos naturais (LÓPEZ-ALARCÓNA; DENICOLA, 2013). O ácido ascórbico, um dos antioxidantes hidrossolúveis mais onipresentes, protege os fosfolipídios da membrana contra danos peroxidativos (MAY, 2012). O ácido ascórbico tem um efeito sinérgico com tocoferol, na remoção de radicais peróxidos lipídicos. Na interfase lipídica, o ácido ascórbico reage com o tocoferoxil oxidado ligado à membrana radical reduzindo-o, e ativando o tocoferol regenerador, capaz de cumprir sua função antioxidante (DU *et al.*, 2012).

Aditivos fitogênicos são uma fonte rica de compostos fenólicos antioxidantes (RAHIMI *et al.*, 2011); no entanto, podem atuar como pró-oxidantes dependendo da dosagem e tipo, destruindo células e causando efeitos citotóxicos adicionais nas células vivas (BAKKALI *et al.*, 2008).

Existem diferentes mecanismos de ação dos antioxidantes, desde a remoção do oxigênio do meio intracelular e extracelular, sequestro dos metais catalizadores da formação de radicais, ou ação de um ou mais mecanismos. A natureza e a composição das defesas visando o equilíbrio oxidativo variam de tecido para tecido, bem como entre o meio intracelular e extracelular (KIRKHAM; RAHMAN, 2006).

Aditivos fitogênicos impactam positivamente a expressão de enzimas antioxidantes, como as enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase, e catalase, e previnem a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) (MARCINC *et al.*, 2008; MIGUEL, 2010). Assim, a suplementação dietética de aditivos fitogênicos pode melhorar o desempenho das aves (NIU *et al.*, 2018; ZHAO *et al.*, 2019).

Por exemplo, quando uma mistura igual de carvacrol e timol foi suplementada para frangos de corte em 60, 100 e 200 mg/kg de ração, verificou-se maior atividade da SOD (HASHEMIPOUR *et al.*, 2013). Além disso, HABIBI *et al.* (2014) mostraram que a

suplementação de óleo essencial de gengibre a 150 mg/kg de ração aumentou a atividade total de SOD e diminuiu os níveis de malondialdeído no fígado. Segundo os autores, vários compostos antioxidantes constituintes do gengibre podem causar essas mudanças, como shogaol, gingerol e zingerona. De forma similar, Chowdhury *et al.* (2018) demonstraram que o óleo da casca de canela (300 mg/kg de dieta) substituído por antibióticos (50 mg/kg de dieta) resultou em melhor estado antioxidante em frangos de corte.

2.4.3 Aditivos fitogênicos no desempenho de frangos de corte

Guo *et al.* (2004) mostraram um aumento significativo no ganho de peso e melhora na eficiência alimentar quando frangos de corte receberam dietas suplementadas com uma mistura de 14 ervas. Resultados semelhantes foram obtidos com adição de extrato de *Achyranthes japonica* rico em flavonoides (1,15 mg/g), polifenóis (4,26 mg/g) e saponinas (0,47 mg/g) (PARK; KIM, 2019), adição de extrato de *Eucommia ulmoides*, tendo como principal constituinte o ácido clorogênico que é um composto fenólico solúvel em água (ZHAO *et al.*, 2019).

Folhas fermentadas de *Ginkgo biloba*, contendo compostos bioativos flavonoides, que possuem estruturas fenólicas com atividade antioxidante tem potencial de melhorar o desempenho de crescimento, qualidade da carne e status antioxidante de frangos de corte (NIU *et al.*, 2018). Pó de caroço de cereja fermentado ou não na ração de frangos proporcionou melhor conversão alimentar em relação ao tratamento controle (ALTOP, 2019). Pó da planta de tomilho na dieta de frangos também melhorou a conversão alimentar, além de melhor atividade antioxidante no plasma sanguíneo (ATTIA, *et al.*, 2018). A suplementação de produto comercial contendo carvacrol, cinamaldeído e oleorresina de capsicum melhora no crescimento e eficiência alimentar (PIRGOZLIEV *et al.*, 2015). Frangos alimentados com dieta contendo cominho apresentaram desempenho semelhante ao tratamento controle (STASTNÍK *et al.*, 2022). Fitogênico contendo timol e carvacrol em níveis de 60 a 200mg/kg de dieta melhorou o desempenho, aumentou as atividades das enzimas antioxidantes, retardou a oxidação lipídica e melhorou a resposta imune dos frangos de corte (HASHEMIPOUR *et al.*, 2013). A suplementaram de pó de cravo e do extrato de tulsi (rico em óleos essenciais, como eugenol e linalol e ácidos orgânicos, como prunol, e ácido labiático) na ração de frangos proporcionou melhora na conversão alimentar (ISLAM *et al.*, 2023).

Vários ensaios com fitogênicos como óleo essencial (25% timol e 25% carvacrol), extrato do caroço de manga (mangiferina), avaliados como promotores de crescimento

alternativos mostraram efeito equivalente aos antibióticos promotores de crescimento nos parâmetros de desempenho (JANG *et al.*, 2007; FARIAS *et al.*, 2021), contudo, muitas vezes têm apresentado outros benefícios como menor oxidação da carne armazenada (FARIAS *et al.*, 2020).

Variações na atividade de fitogênicos são determinadas por fatores citados anteriormente que podem afetar a composição dos fitogênicos, além de outros fatores como forma, método de inclusão na dieta e nível de ingestão das aves (BRENES; ROURA, 2010; HASHEMIPOUR *et al.*, 2013).

2.5 Ácido anacárdico

O cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) pertence à família Anacardiaceae. A produção nacional de castanha de caju em 2022 foi 146.603 toneladas. Os três principais estados produtores são Ceará, Piauí e Rio grande do Norte, sendo responsáveis por mais de 92% da produção (EMBRAPA, 2023). A castanha é utilizada como alimento popularmente em humanos, com ação anti-inflamatória, adstringente, antidiarreica, antiasmática etc. (BARACUHY *et al.*, 2014).

O líquido da casca da castanha de caju (LCC) é um subproduto da produção de castanha de caju. Ele é um líquido cáustico, viscoso, escuro e fonte natural de fenóis de cadeia longa saturada e insaturada (ácidos anacárdicos, cardanol e cardóis). De acordo com o método de extração, o LCC pode ser classificado em dois tipos: o LCC técnico e o extraído com solvente. O LCC técnico é obtido por meio do aquecimento da casca da castanha. O LCC extraído com solvente contém principalmente ácido anacárdico (KUMAR *et al.*, 2002).

Ácidos anacárdicos, principais constituintes do LCC, são derivados do ácido salicílico com uma cadeia de 15 C- alquil não isoprenoide podendo ser monoenoica, dienoica ou trienoica nas posições C-8, -10, e -14, todas em configuração cis (KUBO *et al.*, 2003). Gellerman *et al.* (1969) relataram que uma redução no número de ligações duplas na cadeia lateral do ácido anacárdico diminui a atividade antibacteriana. Assim, a ligação dupla na cadeia lateral está envolvida no aumento da atividade antibacteriana. A redução da atividade antibacteriana devido a diminuição no número de ligações duplas na cadeia lateral dos ácidos anacárdicos pode ser explicada pelo conhecimento de que a introdução de insaturação ou ramificação no grupo hidrofóbico é conhecido por aumentar a solubilidade do surfactante em água (ROSEN, 1989).

2.5.1 Efeitos do ácido anacárdico

Ácidos anacárdicos são lipídios fenólicos que podem ser incorporados por eritrócitos e na membrana lipossomal, exercendo atividade antioxidante, antígeno-tóxica e citostática (ANDRADE *et al.*, 2011). Os ácidos anacárdicos tem muitas propriedades medicinais, como fungicida (KUBO *et al.*, 2006), atividades antitumorais e antimicrobianas (KUBO *et al.*, 1993), ação anti-inflamatória (SCHMOURLO *et al.*, 2005), bem como a inibição de enzimas pró-oxidantes como lipoxigenase (HÁ; KUBO, 2005), xantina oxidase (TREVISAN *et al.*, 2006), tirosinase (KUBO *et al.*, 1993), ciclo-oxigenase (HÁ; KUBO, 2005) e a histona acetiltransferase (SUN *et al.*, 2006; DEKKER; HAISMA, 2009). SUNG *et al.* (2008) demonstraram efeito modulador dos ácidos anacárdicos na sinalização de NF-KB.

O extrato da folha do cajueiro também tem demonstrado atividade broncodilatadora e anti-inflamatória (PAWAR; PAL, 2002; AWAKAN *et al.*, 2017). A inflamação é uma reação protetora das células ou tecidos do corpo à irritação, infecções ou lesões, entretanto, a inflamação pode levar à perda de função devido à dilatação dos vasos sanguíneos e aumento dos espaços intercelulares, que resultam no movimento de leucócitos, proteínas e fluidos nas regiões inflamadas (PARHAM, 2015), sendo importante o uso de substâncias com ação anti-inflamatória.

Segundo Kubo *et al.* (2003) os ácidos anacárdicos são capazes de entrar nas bicamadas lipídicas da membrana, onde várias enzimas, especialmente componentes de sistemas de conversão de energia, como cadeia de transporte de elétrons e ATPases, estão incorporadas, prejudicando seu funcionamento. Além disso, foi relatado que os ácidos anacárdicos inibem a síntese de lipídios de células bacterianas pela inibição de glicerol-3-fosfato desidrogenase (MURATA *et al.*, 1997).

Entre as diferentes atuações dos ácidos anacárdicos como antioxidantes, inclui a inibição de várias enzimas pró-oxidantes envolvidas na produção de espécies reativas de oxigênio e quelantes de íons metálicos divalentes, como Fe^{2+} ou Cu^{2+} (KUBO *et al.*, 2006).

A capacidade dos ácidos anacárdicos de quelação de metais é sua vantagem adicional porque reduz a concentração de metais de transição que catalisam a peroxidação lipídica. Isso é conhecido como um agente quelante, que forma ligações com um metal, sendo eficazes como antioxidantes secundários, pois reduzem o potencial redox, estabilizando assim a forma oxidada do íon metálico (HÁ; KUBO, 2005). Dessa forma, o ácido anacárdico é um antioxidante natural com potencial de utilizar na produção animal. Além disso, o uso de uma

fonte abundante e barata de compostos naturais está de acordo com o conceito de química verde, também conhecido como química sustentável (ANDRADE *et al.*, 2011).

2.5.2 Fontes de ácidos anacárdicos e seus efeitos na produção animal

Algumas pesquisas avaliaram fontes de ácido anacárdico na ração de animais de produção. Odunsi e Oyewole (1996) incluíram óleo de palma (1, 2,5 e 5%) e LCC (1, 2,5 e 5%) na dieta de frangos de corte nas 4 primeiras semanas. Da 5^a a 8^a semana forneceram uma dieta comum de terminação para avaliar o efeito residual e relataram que a adição de LCC na dieta de frangos de corte em níveis acima de 1% prejudica o desempenho.

Toyomizu *et al.* (2003), que avaliaram níveis de ácido anacárdico (0,4 e 0,8%) e LCC (0,1 a 0,4%), demonstraram um efeito benéfico do ácido anacárdico na prevenção de lesões de coccidiose no intestino de frangos de corte. López *et al.* (2012) avaliaram LCC (0,1 a 0,4ml) comparando o tratamento sem e com promotor de crescimento (virginiamicina) e verificaram desempenho semelhante ao tratamento com promotor de crescimento, além de redução da concentração de *Escherichia coli* no conteúdo intestinal.

Braz *et al.* (2017) avaliaram o líquido da casca da castanha de caju como fonte de ácido anacárdico, na dieta de galinhas poedeiras. Os tratamentos consistiram de uma dieta com promotor de crescimento; controle negativo; dietas com adição de níveis crescentes de LCC (0,25 a 1,0%). A adição de até 1% do LCC como fonte de ácido anacárdico na dieta de poedeiras não influenciou os parâmetros bioquímicos sanguíneos nem a atividade enzimática endógena no fígado, ovário, magno e útero. Contudo, se verificou menor peroxidação lipídica no ovário com a inclusão de 0,75% LCC.

O ácido anacárdico também tem sido avaliado na forma de sal, o anacardato de cálcio, possibilitando uma melhor utilização em rações devido a sua apresentação em pó. Santos *et al.* (2022) avaliaram níveis de anacardato de cálcio de 0,25 a 1% na dieta de codornas de postura comparando com os tratamentos controle negativo e controle com antibiótico promotor de crescimento, e verificaram efeito semelhante nas variáveis de desempenho e qualidade de ovos.

Matos *et al.* (2017) avaliaram níveis a partir de 0,4 a 1,2% de anacardato de cálcio na dieta de suínos na fase de creche comparando com os tratamentos controle com ou sem antibiótico promotor de crescimento. Verificaram efeito semelhante no desempenho dos 21 aos 42 dias de idade, parâmetros sanguíneos e na relação altura de vilosidade/profundidade de cripta. Ferreira *et al.* (2020) avaliaram a adição de até 1% de ácido cítrico e 1% de anacardato

de Ca comparando os tratamentos com ou sem antibiótico promotor de crescimento. Verificaram que a suplementação dietética de anacardato de Ca e ácido cítrico melhorou o desempenho zootécnico e a morfometria intestinal de leitões desmamados e resultou em efeitos semelhantes ao uso de antibióticos promotores de crescimento.

Adeyemi *et al.* (2021) avaliaram a suplementação de pó de folha (continha tanino 62,41 mg/100 g; flavonoides 149,86 mg/100 g; fenólicos 29,00 mg/100 g; saponina (36,56 mg/100 g) e alcaloide 31,67 mg/100 g) de *Anacardium occidentale* na dieta de frangos de corte em comparação com antibiótico e antioxidante sintético. Constataram que o aditivo em pó exibiu propriedades antimicrobianas e antioxidantes comparáveis às respostas à oxitetraciclina e Hidroxianisol Butilado (BHA) em dietas de frangos de corte.

Em experimento com frangos de corte, comparando anacardato de cálcio com antibiótico promotor de crescimento, Freitas *et al.* (2022) avaliaram a suplementação de 0,25 a 1% de anacardato de cálcio comparando ao tratamento controle com promotor de crescimento e verificaram desempenho semelhante em frangos aos 42 dias. Além disso, a partir de 0,75% na dieta de frangos de corte verificou-se redução na proporção de gordura na carcaça e na oxidação lipídica da carne;

2.6 Ácidos orgânicos

São ácidos orgânicos qualquer substância de estrutura geral (R-COOH), gerando derivados dos ácidos carboxílicos, como aminoácidos, ácidos graxos, coenzimas e metabólitos intermediários (KHAN; IQBAL, 2016). São amplamente distribuídos na natureza, constituintes de tecidos vegetais ou animais e alguns deles são produzidos no intestino posterior dos animais por meio de fermentação microbiana de carboidratos (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMERSEEL, 2011).

Os ácidos orgânicos utilizados na produção animal são de cadeia curta, contém de 1 a 7 carbonos, são associados a atividade antimicrobiana. São ácidos fracos que ao se dissociarem produzem menor quantidade de prótons por molécula (DIBNER; BUTTIN, 2002).

Os ácidos orgânicos podem ser inseridos na alimentação animal por meio da ração ou da água, podendo utilizá-los como ácidos ou seus sais (de sódio, potássio ou cálcio), ou ainda combinações com outros aditivos (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMERSEEL, 2011; KHAN; IQBAL, 2016).

Os ácidos orgânicos são considerados potenciais alternativas aos antibióticos promotores de crescimento, devido à sua natureza antibacteriana. Os ácidos orgânicos usados

nas rações para animais podem ser descritos como ácidos monocarboxílicos simples a exemplo, ácido fórmico, acético, propiônico e butírico. Ou ácidos carboxílicos contendo grupo hidroxila, por exemplo, ácidos láctico, málico, tartárico e cítrico (DIBNER; BUTTIN, 2002; MEHDI *et al.*, 2018).

Embora, quando a ração seja peletizada, o tratamento térmico seja eficaz na redução da contaminação da ração que sai da fábrica de rações, este efeito não persiste durante o transporte e armazenamento até o consumo pela ave. Assim, as condições dentro da ração podem ser favoráveis à contaminação por bactérias como *Salmonella*. Dessa forma, o próximo ponto crítico de controle é o ambiente intestinal, onde as condições podem ser ótimas novamente para o crescimento bacteriano (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). Assim, podem ser utilizados inibidores no crescimento bacteriano como ácidos orgânicos.

O setor de produção de aves e a indústria de rações ainda sofrem grandes perdas devido ao impacto da contaminação dos alimentos por bactérias patogênicas sobre o desempenho animal, como redução no ganho de peso corporal ou mesmo aumento da mortalidade e piora na conversão alimentar. O desempenho das aves comerciais e a eficiência alimentar estão intimamente relacionadas com a carga microbiana qualitativa e quantitativa do hospedeiro animal, incluindo a carga no trato alimentar e no meio ambiente (ISLAM *et al.*, 2008), sendo de grande importância utilizar ferramentas como o uso de ácidos orgânicos na dieta das aves.

2.6.1 Efeitos dos ácidos orgânicos na dieta de aves

Ácidos orgânicos quando adicionados à dieta de aves de corte podem melhorar o desempenho de crescimento, por meio de diferentes modos de ação, como redução do pH intestinal e da capacidade de tamponamento de dietas, inibindo o crescimento de bactérias patogênicas (SAMANTA *et al.*, 2008; PANDA *et al.*, 2009). Os mesmos ocasionam o aumento da proporção de bactérias benéficas tolerantes a ambientes ácidos como *Lactobacillus spp.* e, consequentemente, reduzem a competição por nutrientes (BIGGS; PARSONS, 2008; NAVA *et al.*, 2009; BOROJENI *et al.*, 2014); além de controlar microrganismos prejudiciais em órgãos digestivos e respiratórios e melhorar as respostas imunológicas em aves (YESILBAG; COLPAN, 2006; ABUDABOS *et al.*, 2014).

Pode-se melhorar a digestibilidade de nutrientes por aumentar a retenção de proteína e matéria seca, além aumentar a absorção de fósforo (RAFACZ-LIVINGSTON *et al.*, 2005; NEZHAD *et al.*, 2011). O aumento da eficiência alimentar nas aves também pode ser

parcialmente explicado pela melhora na morfologia intestinal, podendo assim aumentar a capacidade de absorção de nutrientes, além disso os ácidos orgânicos contribuem como fontes de energia estimulando reações metabólicas (PARTANEN; MROZ, 1999).

Os ácidos orgânicos também podem formar quelatos que previnem reações de íons metálicos com nutrientes, aumentando assim a metabolizabilidade dos nutrientes, além de, inibir a ação de íons metálicos como catalisadores em reações danosas ao organismo (ADAMS, 1999).

Contudo, mesmo diante dos diversos benefícios dos ácidos orgânicos na produção animal, esses efeitos são influenciados por fatores como nível de inclusão, proporção das formas dissociada e não dissociada, capacidade de tamponamento dos demais ingredientes da ração (DIBNER; BUTTIN, 2002). Nos ingredientes fontes de proteína de origem animal, a capacidade tamponante é maior comparado a de cereais. Dessa forma, os alimentos possuem capacidade tamponante intrínseca, que é a capacidade de resistir a mudança de pH após adição de solução seja ácido ou base (YAMILE *et al.*, 2019).

2.6.2 Absorção de ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos não dissociados são absorvidos pelo epitélio intestinal por difusão passiva através de um gradiente eletroquímico favorável (MENTEN *et al.*, 2014). O pH das porções do sistema digestivo das aves varia de 4,5 no papo, 4,8 no proventrículo, 4,7 a 2,5 na moela, 6,4 no duodeno, 6,6 no íleo superior; chegando a 7,2 no íleo inferior (STURKIE, 1986).

Os ácidos fumárico e cítrico são absorvidos por mecanismos de gradiente de Na^+ específico para di e tricarboxílicos. O ácido láctico, o fumárico e o cítrico, após absorvidos, são metabolizados pelo ciclo dos ácidos carboxílicos a dióxido de carbono e água, sendo produzidos um total de 10 a 27 moles de ATP (KIRCHGESSNER; ROTH, 1998). O ácido fórmico é metabolizado no fígado a dióxido de carbono num processo que depende de tetraidrofolato, sendo seu acúmulo tóxico (MAKAR *et al.*, 1990), sendo necessário determinar a quantidade adequada desses ácidos orgânicos, evitando excessos.

Os ácidos graxos de cadeia curta como acético, propiônico e butírico são produzidos no ceco e cólon dos monogástricos pela fermentação de carboidratos e fibras da dieta. As taxas de transporte dos ácidos pela mucosa do intestino grosso dependem da concentração (FLEMING; CHOI; FITCH, 1991).

É preciso melhor entender os efeitos dos ácidos orgânicos isolados ou em associação com outros aditivos, além do efeito no pH, efeitos na heterogeneidade da microbiota intestinal e eventos fisiológicos concorrentes. Dessa forma, ao decidir pela utilização de ácidos orgânicos na ração, é importante conhecer as características dos ácidos, seus sais ou suas misturas (MENTEN *et al.*, 2014).

2.6.3 Ação antimicrobiana de ácidos orgânicos

Animais e plantas vivem em constante simbiose com diversas bactérias, que competem com as bactérias patogênicas, que regulam o desenvolvimento do intestino, além de produzir vitaminas para o hospedeiro. No entanto, algumas bactérias são conhecidas por serem causadoras de doenças, além da competição de nutrientes entre o animal hospedeiro e a população bacteriana. Sabe-se que as bactérias patogênicas secretam substâncias tóxicas, podem reduzir a digestibilidade, podem aumentar a taxa de renovação das células epiteliais absorptivas, aumentam a taxa de secreção de muco pelas células caliciformes e estimulam o sistema imunológico e respostas inflamatórias (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). Portanto, é muito importante manter o equilíbrio da população bacteriana intestinal. Os ácidos orgânicos têm efeito sobre a microbiota, reduzindo a população de espécies como *E. coli*, *Salmonella* e *Campylobacter*, que são espécies prejudiciais (DIBNER; BUTTIN, 2002).

A parede celular das bactérias consiste principalmente de peptidoglicanos ligados por polissacarídeos extracelulares. A camada de peptidoglicano é mais fina em bactérias gram-negativas em comparação com bactérias gram-positivas. Entretanto, bactérias gram-negativas possuem uma resistência a antibióticos e detergentes hidrofóbicos devido à presença de uma membrana externa adicional (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015; GAO; SU; WANG, 2022).

A ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos pode acontecer de duas formas. A primeira com a redução do pH do meio. E a segunda devido à ação da forma não dissociada (HELLWEG *et al.*, 2006). A forma não dissociada por ser solúvel em lipídios, tem a capacidade de atravessar passivamente a membrana celular, e acaba inativando enzimas e forçando a célula bacteriana a gastar energia para exportar prótons excedentes H^+ (KHAN; IQBAL, 2016). A forma não dissociada também provoca o aumento da pressão osmótica, que na tentativa de equilibrar a carga elétrica, aumenta os níveis de sódio, potássio ou glutamato, a ponto de provocar o rompimento da parede celular devido ao aumento de pressão sobre a mesma (LUCKSTADT; MELLOR, 2010).

A toxicidade no interior da célula bacteriana varia em função do ácido e do tipo de microrganismo (KHAN; IQBAL, 2016). Segundo Patanen (2001), as bactérias gram-negativas são sensíveis a ácidos com cadeia carbônica inferior a 8 carbonos, enquanto as bactérias gram-positivas são sensíveis a ácidos de cadeia longa.

Os ácidos orgânicos alteram sua forma entre ionizada e não ionizada conforme seu pKa e pH do meio. O pKa de um ácido é o valor de pH no qual 50% do ácido está na forma ionizada, e determinado pelo logaritmo negativo da constante de ionização do ácido, ou Ka, que, indica a força do ácido, ou seja, sua capacidade doadora de prótons (KHAN; IQBAL, 2016). Quanto menor o pH do meio e maior o pKa do ácido, mais eficiente ele é como agente antimicrobiano (PARTANEN, 2001), sendo melhorada sua eficácia quanto maior for sua concentração, sua cadeia carbônica e seu grau de insaturação (PARTANEN; MROZ, 1999; KHAN; IQBAL, 2016). A maioria dos ácidos orgânicos com atividade antimicrobiana tem um pKa entre 3 e 5 (KHAN; IQBAL, 2016).

Ao reduzir a população microbiana maléfica, ocorre um alívio no metabolismo animal devido à redução na produção de amônia, amina e toxinas no intestino, e conseqüentemente, ocorrerá uma redução da exigência de manutença dos animais, pois maior quantidade de nutrientes estarão disponíveis para absorção e utilização para deposição muscular levando à melhor eficiência alimentar (HELLWEG *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2015).

2.6.4 Ácidos orgânicos na ração de frangos de corte

O uso de ácidos orgânicos tem demonstrado benefícios significativos na produção de aves nas pesquisas que vem sendo realizadas ao longo dos anos. A suplementação de ácido fumárico em frangos de corte promoveu melhora no ganho de peso e na conversão alimentar (BIGGS; PARSONS, 2008; ADIL *et al.*, 2011; BANDAY *et al.*, 2015; YANG, *et al.*, 2018; 2019). Efeitos semelhantes de melhoria de desempenho de crescimento foram vistos quando o ácido butírico foi incluído na ração de frangos de corte (PANDA *et al.*, 2009; ADIL *et al.*, 2011). Outros ácidos também foram testados e promoveram melhora no desempenho das aves como ácido cítrico (CHOWDHURY *et al.*, 2009; SALGADO-TRÁNSITO *et al.*, 2011) e ácido fórmico (HERNÁNDEZ *et al.*, 2006; PANDA *et al.*, 2009). Samanta *et al.* (2008), ao utilizarem uma combinação de ácidos orgânicos, incluindo ácido fórmico e propiônico, verificaram melhora na conversão alimentar de frangos de corte.

Outras pesquisas têm relatado melhora no ganho de peso e conversão alimentar utilizando butirato de cálcio (KACZMAREK *et al.* 2016); ácido fumárico (SHEIKH *et al.*,

2011) e ácido cítrico (AFSHARMANESH; POURREZA, 2005; NEZHAD *et al.*, 2007), além de aumento no consumo de ração (MOGHADAM; POURREZA; SAMIE, 2006) e melhora na eficiência alimentar (ABDEL-FATTAH *et al.*, 2008).

Outros estudos verificaram melhora de variáveis relacionadas à qualidade óssea, como maior retenção de fósforo (BRENES *et al.*, 2003; LIEM; PESTI; EDWARDS JR., 2008) e maior teor de cinzas na tíbia (RAFACZ-LIVINGSTON *et al.*, 2005; MARTINEZ-AMEZCUA; PARSONS; BAKER, 2006) de frangos de corte. Também se tem verificado redução no pH no conteúdo do papo, moela e intestino (NOURMOHAMMADI; KHOSRAVINIA, 2015) em frangos de corte, além de melhora nas respostas imunes dos frangos de corte (RAHMANI; SPEER, 2005; ABDEL-FATTAH *et al.*, 2008).

Estudos mostraram que a adição de ácido cítrico na dieta de aves contribuiu para diminuir a contagem de bactérias intestinais patogênicas (ELNAGGAR E ABO EL-MAATY, 2017; FIKRY *et al.*, 2021). Além do ácido cítrico promover redução no pH do conteúdo do trato gastrointestinal (FIKRY *et al.*, 2021), melhora a morfometria do intestino delgado (NOURMOHAMMADI; AFZALI, 2013) e melhora da digestibilidade dos nutrientes da ração (NOURMOHAMMADI *et al.*, 2012; FIKRY *et al.*, 2021). Além disso, a suplementação de ácido cítrico em dietas com baixo teor de nutrientes pode compensar as perdas de desempenho de frangos de corte (ISLAM *et al.*, 2021).

2.7 Ácido cítrico

O ácido cítrico é um ácido tricarbóxico (ácido 2-hidroxi-1,2,3-propano-tricarboxílico), quando puro é incolor, facilmente solúvel em água. É biodegradável, ecologicamente correto, econômico e seguro (ANGUMEENAL; VENKAPPAYYA, 2013). O ácido cítrico é um metabólito comum de plantas e animais, sendo o principal intermediário do metabolismo dos carboidratos. (ANGUMEENAL; VENKAPPAYYA, 2013; ABDEL-SALAM *et al.*, 2014).

Foi isolado pela primeira vez em 1784 pelo químico sueco Carl Wilhelm Scheele, que o cristalizou a partir do suco de limão. A produção do ácido cítrico em escala industrial começou em 1860 (ISLAM, 2012).

O uso de ácido cítrico 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 spp*, e outras bactérias gram-negativas (CHOWDHURY *et al.*, 2009). Atua por ativação de enzimas proteolíticas, estimula o consumo de ração, reduz a produção de amônia e outros

metabólitos microbianos depressores do crescimento, favorece a absorção de minerais e diminui a incidência de infecções subclínicas (CHOWDHURY *et al.*, 2009; ISLAM, 2012).

O mecanismo de ação é semelhante ao de outros ácidos orgânicos de cadeia curta. Quando o ácido está na forma não dissociada no intestino, atravessa a membrana celular dos patógenos e ocorre a dissociação com a liberação de íons H^+ que leva a redução do pH com consequente inibição de reações metabólicas essenciais, levando ao desequilíbrio na homeostase do pH intracelular e acúmulo de ânions tóxicos, levando à destruição do citoplasma e inibindo a colonização por patógeno na borda em escova (ISLAM, 2012).

3 ANACARDATO DE CÁLCIO EM ASSOCIAÇÃO COM ÁCIDO CÍTRICO NA RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE: DESEMPENHO, PARÂMETROS SANGUÍNEOS E STATUS OXIDATIVO DO SANGUE E FÍGADO

RESUMO

O objetivo com esta pesquisa foi avaliar os efeitos da adição de combinações de anacardato de cálcio com ácido cítrico na ração de frangos de corte sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue, pH do conteúdo e peso relativo de órgãos e segmento do trato digestório, oxidação lipídica do soro sanguíneo e fígado, desempenho e características de carcaça. Foram utilizados 768 pintos machos de frangos de corte da linhagem Ross com 1 dia de idade, distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado com oito tratamentos e seis repetições de 16 aves. Os tratamentos foram constituídos por: ração controle negativo; ração controle positivo; ração com 0,25% AnCa (Anacardato de cálcio) + 0,25% AC (Ácido cítrico); ração com 0,50% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,50% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,75% AC. Conforme os resultados, em relação às aves alimentadas com ração controle negativo, as diferentes combinações de anacardato e ácido cítrico reduziram o nível de ácido úrico no sangue das aves aos 21 dias de idade. O peso relativo do duodeno foi maior com a adição de 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC aos 21 e 42 dias de idade. A capacidade antioxidante do sangue aumentou com a adição de rações contendo 0,50% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC; 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC aos 42 dias de idade. A oxidação lipídica do sangue diminuiu com todas as doses de AnCa + AC aos 42 dias de idade e a oxidação lipídica do fígado diminuiu com todas as doses de AnCa + AC aos 21 e 42 dias de idade. Quanto ao desempenho, no período de 1 a 21 dias de idade, observou-se que as aves alimentadas com a adição a partir 0,50% AnCa + 0,25% AC na ração apresentaram menor consumo de ração, ganho de peso e peso final em relação às aves alimentadas com a ração controle negativo. Contudo, no período de 1 a 42 dias de idade, o ganho de peso não foi influenciado pelos tratamentos, enquanto, a adição de 0,75% AnCa + 0,25% AC ou 0,75% AnCa + 0,75% AC reduziu o consumo de ração e a conversão alimentar melhorou com as combinações de 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC; e 0,75% AnCa + 0,50% AC. As características de carcaças dos frangos não foram influenciadas pelos tratamentos. Conclui-se que concentração de ácido úrico sanguíneo em frangos até 21 dias reduz com a adição de anacardato de cálcio e ácido cítrico em todos níveis

testados, e o consumo de ração e ganho de peso reduzem com a adição das combinações de 0,50% AnCa e 0,25% AC; 0,50% AnCa e 0,50% AC; 0,75% AnCa e 0,25% AC; 0,75% AnCa e 0,50% AC e 0,75% AnCa e 0,75% AC. Contudo, quando se considera o período total de criação, pode-se recomendar a adição de 0,50% AnCa + 0,50% AC, visto que esta combinação melhora o estado oxidativo no sangue e fígado dos frangos aos 42 dias de idade e a conversão alimentar.

Palavras-chave: ácido anacárdico, ácido orgânico, composto fenólico, conversão alimentar, estabilidade lipídica.

Calcium anacardate in association with citric acid in broiler feed: performance, blood parameters and oxidative status of blood and liver

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effects of the addition of combinations of calcium anacardate with citric acid in the diet of broiler chickens on the hematological and biochemical parameters of the blood, pH of the content and relative weight of organs and segments of the digestive tract, oxidation blood serum lipids and liver, performance and carcass traits. 768 male Ross broiler chicks, 1 day old, were distributed in a completely randomized experimental design with eight treatments and six replications of 16 birds. The treatments consisted of: negative control ration; positive control ration; ration with 0.25% AnCa (Calcium anacardate) + 0.25% AC (Citric acid); ration with 0.50% AnCa + 0.25% AC; ration with 0.50% AnCa + 0.50% AC; ration with 0.75% AnCa + 0.25% AC; ration with 0.75% AnCa + 0.50% AC; ration with 0.75% AnCa + 0.75% AC. According to the results, in relation to the birds fed with negative control ration, the different combinations of anacardate and citric acid reduced the level of uric acid in the blood of the birds at 21 days of age. The relative weight of the duodenum was greater with the addition of 0.75% AnCa + 0.50% CA and 0.75% AnCa + 0.75% CA at 21 and 42 days of age. The blood antioxidant capacity increased with the addition of diets containing 0.50% AnCa + 0.25% AC; 0.50% AnCa + 0.50% AC; 0.75% AnCa + 0.25% AC; 0.75% AnCa + 0.50% AC and 0.75% AnCa + 0.75% AC at 42 days of age. Blood lipid oxidation decreased with all doses of AnCa + AC at 42 days of age and the liver lipid oxidation decreased with all doses of AnCa + AC at 21 and 42 days of age. As for performance, in the period from 1 to 21 days of age, it was observed that birds fed with the addition of 0.50% AnCa + 0.25% AC in the feed showed lower feed intake, weight gain and weight final in relation to the birds fed with the negative control ration. However, in the period from 1 to 42 days of age, weight gain was not influenced by treatments, while the addition of 0.75% AnCa + 0.25% AC or 0.75% AnCa + 0.75% AC reduced feed intake and improved feed conversion with combinations of 0.50% AnCa + 0.50% AC; 0.75% AnCa + 0.25% AC; and 0.75% AnCa + 0.50% AC. The carcass characteristics of chickens were not influenced by treatments. It is concluded that blood uric acid concentration in chickens up to 21 days old reduces with the addition of calcium anacardate and citric acid at all levels tested, and feed intake and weight gain decrease with the addition of the 0.50% combinations AnCa and 0.25% CA; 0.50% AnCa and 0.50% AC; 0.75% AnCa and 0.25% AC; 0.75% AnCa and 0.50% AC and 0.75% AnCa and 0.75% AC. However, when considering the total rearing period, the addition of 0.50%

AnCa + 0.50% AC can be recommended due to this combination improves the oxidative state in the blood and liver of chickens at 42 days of age and the feed conversion.

Keywords: anacardic acid, organic acid, phenolic compound, feed conversion, lipid stability.

3.1 Introdução

A produção de carne de frangos criados sem a utilização de antibióticos promotores de crescimento na ração é uma realidade para a indústria avícola que há décadas tem buscado alternativas para manter a saúde intestinal dos frangos, garantindo, as suas funções digestivas, absorptivas, metabólicas, imunológicas e endocrinológicas (SVIHUS, 2014), que se interrompidas, podem afetar as funções sistêmicas acarretando perdas de desempenho animal (OVIEDO-RONDÓN, 2019).

Entre as alternativas para substituir os antibióticos das rações, podem ser destacados os aditivos fitogênicos e os ácidos orgânicos e seus sais (POLYCARPO *et al.*, 2017; KURALKAR; KURALKAR, 2021; MELAKU *et al.*, 2021). Mais recentemente tem surgido o interesse no desenvolvimento de produtos contendo misturas de fitogênicos, principalmente polifenóis e ácidos orgânicos (FASCINA *et al.*, 2017; SCICUTELLA *et al.*, 2021; ADEWOLE *et al.*, 2021).

O ácido anacárdico é um composto fenólico naturalmente encontrado em maior proporção no líquido da casca da castanha de caju e que apresenta atividade antioxidante, antitumoral, antibacteriana, antifúngica e, também, a habilidade de inibir as enzimas tirosinase, prostaglandina sintase e lipoxigenase (TOYOMIZU *et al.*, 2003). A ação dos ácidos anacárdicos vem sendo estudada há algum tempo com resultados positivos no controle de diversos agentes infecciosos (KUBO *et al.*, 2003; NARASIMHAN *et al.*, 2008).

O ácido anacárdico pode ser isolado do líquido da castanha de caju e utilizado na forma de anacardato de cálcio, possibilitando a sua melhor utilização em rações devido a sua apresentação em pó. Resultados de pesquisas com o uso de anacardato de cálcio na alimentação de suínos na fase de creche (MATOS *et al.*, 2017), codornas de postura (SANTOS *et al.*, 2022) e frangos aos 42 dias (FREITAS *et al.*, 2022) indicaram desempenho das diferentes espécies semelhante àqueles cujos grupos controle foram alimentados com ração contendo antibiótico promotor de crescimento. Ferreira *et al.* (2020) encontraram melhora na conversão alimentar de suínos na fase de creche ao associar ácido cítrico e anacardato de cálcio. Dessa forma, o ácido anacárdico isolado ou de forma associada proporcionou resultados semelhantes aos animais alimentados com dieta contendo promotor de crescimento.

A eficiência da atividade antibacteriana de um ácido orgânico depende das propriedades químicas do ácido ou de seu sal, sendo a capacidade de dissociação a principal característica envolvida na resposta (DIBNER; BUTTIN, 2002). Segundo Ferreira *et al.* (2020), o pH luminal para dissociação do anacardato de cálcio deve ser inferior a 4 e, portanto, a

administração conjunta do anacardato de cálcio com um ácido orgânico pode promover uma redução do pH no trato gastrointestinal favorecendo a dissociação dos sais de anacardato de cálcio em ácidos anacárdico e íons de cálcio, disponibilizando a forma livre para atuar no lúmen intestinal e ser absorvido, obtendo-se assim os benefícios das suas ações biológicas.

O ácido cítrico é um ácido orgânico que é geralmente utilizado para reduzir o pH gástrico e assim facilitar digestão de proteínas e absorção de aminoácidos (CHOWDHURY *et al.*, 2009), além de atuar favorecendo o desenvolvimento de *Lactobacillos* e inibindo a microflora intestinal patogênica (CHOI *et al.*, 2000; SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

Nesse contexto, objetivou-se com esta pesquisa avaliar os efeitos da adição de diferentes combinações de anacardato de cálcio com ácido cítrico na ração de frangos de corte sobre parâmetros hematológico e bioquímico do sangue, pH do conteúdo de seguimentos do trato digestório, peso relativo de órgãos, oxidação lipídica do soro sanguíneo e fígado, desempenho e características de carcaça.

3.2 Material e métodos

Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob o protocolo N° 4438250719, e estão de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

3.2.1 Produção do anacardato de cálcio

Os procedimentos de extração do líquido da casca da castanha de caju e produção do anacardato de cálcio foram realizados no laboratório de extração (LAEX), localizado no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC).

As cascas da castanha de caju foram adquiridas de empresa que realiza o beneficiamento da castanha para extração da amêndoa, localizada no município de Pacajus, Ceará, Brasil. Nas instalações do LAEX, inicialmente as cascas da castanha foram trituradas em picador forrageiro (GTI-2000 LDF) e, em seguida, acondicionadas em recipientes de vidro, onde permaneceram imersas em etanol 99,5 °GL, na proporção de 1:1, durante sete dias, em temperatura ambiente. Após este período a mistura foi filtrada com o auxílio de um tecido (TNT) de 0,5mm, obtendo o líquido da castanha de caju (LCC) mais etanol. Após esse procedimento foi adicionado mais álcool no mesmo material até ficar imerso novamente por

mais 7 dias, e posteriormente foi realizado o mesmo procedimento para retirada do LCC mais etanol.

O LCC obtido na primeira e na segunda filtração foi homogeneizado e a quantidade média de etanol e LCC na mistura foi determinada, submetendo-se três amostras da mistura à evaporação em evaporador rotativo (Evaporador Rotativo TE – 210®, Tecnal, Piracicaba, Brasil), a 50°C, rotação de 60 rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente (etanol) e obtenção do LCC. As concentrações obtidas na solução foram de 25,5% de LCC e 74,5% de etanol.

O anacardato de cálcio foi obtido segundo metodologia apresentada por Paramashivappa *et al.* (2001), com adaptações propostas por Trevisan *et al.* (2006), em que a partir da reação dos ácidos anacárdicos presente no LCC com hidróxido de cálcio, forma-se um sal de cálcio que se precipita da mistura e pode ser separado. Para isso, em um béquer com capacidade de 4L foram adicionados 2.157mL da solução de LCC+ etanol (550mL de LCC e 1.607mL de etanol), 150 mL de água destilada e 250g de hidróxido de cálcio dissolvidos em 1.243mL de etanol. Essa mistura foi aquecida com agitação (Agitador Magnético com Aquecimento – Q261-22, Quimis, Diadema, Brasil), até atingir a temperatura de 50°C, permanecendo nessa condição por 4h. Ao final do período, a mistura foi deixada em descanso para a decantação por 1 hora. Em seguida, o sobrenadante foi retirado e adicionado 800 mL de etanol à massa decantada que foi submetida a uma nova agitação e aquecimento por mais 1 hora. Novamente a mistura foi deixada para decantação por igual período e foi retirado o sobrenadante. O material precipitado foi retirado e filtrado com o auxílio de um tecido (TNT) de 0,5mm, para a separação do anacardato de cálcio e dos resíduos do sobrenadante que ainda estavam misturados ao precipitado. O anacardato de cálcio, retido no TNT, foi encaminhado para secagem em estufa de ventilação forçada (Estufa de secagem - MA035/5/10P, Marconi, Piracicaba, Brasil) a 55°C por 72 horas, e então triturado.

A análise de quantificação dos ácidos anacárdicos no anacardato de cálcio foram realizadas no laboratório de produtos naturais do Departamento de Química da UFC. Para esta análise, a amostra de anacardato de cálcio foi convertida em ácidos anacárdicos conforme procedimento descrito por Paramashivappa *et al.* (2001), em que uma alíquota de 1,1 gramas de anacardato de cálcio foi transferida para um Erlenmeyer com 3 mL acetato de etila, 8,8 mL água e 1,2 mL de HCl P.A, submetido à mistura sob vigorosa agitação durante 1 h e posteriormente filtrada em funil de Büchner. O filtrado foi transferido para um funil de separação, onde foi realizada uma partição líquida - líquido com acetato de etila (2x 3 mL), obtendo uma fase orgânica rica em ácidos anacárdicos, que foi posteriormente lavada com água

Mili – Q (200 mL) e seca com sulfato de sódio anidro. O extrato foi submetido à rotaevaporação para eliminação do solvente e obtenção de uma fração contendo apenas os ácidos anacárdicos que foi quantificada por meio de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) com detector DAD (Diode Array Detector) da marca Agilent operando na faixa ultravioleta com coluna analítica C-18 Latek (5 μm , 250 x 4 mm) em uma corrente de $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ com volume de injeção de 10 μL . O detector DAD foi ajustado nos comprimentos de onda de 254, 278, 325 e 340 nm, onde os ácidos anacárdicos têm picos de absorção mais elevados em UV-VIS. A quantidade de ácidos anacárdicos presentes no anacardato de cálcio foi de 66,65%.

3.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo das aves

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da UFC em um galpão com dimensões de 15 m x 10 m, provido de 48 boxes de 1,0 x 1,5 m com o piso coberto com maravalha e equipados com comedouros tubular e bebedouro pendular.

Foram utilizados 768 pintos machos de frangos de corte da linhagem Ross 308 AP (AP95) com 1 dia de idade, vacinados no incubatório contra a doença de Marek e Gumboro. Aos 7 dias os pintos foram vacinados contra a doença de Newcastle. No galpão experimental, as aves foram pesadas para obtenção do peso médio (36,78 g \pm 0,57), critério utilizado para uniformização das unidades experimentais, conforme recomendações de (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016), e distribuídas nas parcelas seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado composto de oito tratamentos e seis repetições de 16 aves por unidade experimental, totalizando 96 aves por tratamento.

Os tratamentos foram constituídos por: ração controle negativo (sem promotor de crescimento e sem anticoccidiano); ração controle positivo (com promotor de crescimento e anticoccidiano); rações com níveis de anacardato de cálcio associado a níveis de ácido cítrico, sendo ração com 0,25% de Anacardato de Cálcio (AnCa) + 0,25% de Ácido cítrico (AC); ração com 0,50% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,50% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,75% AC.

O programa de alimentação foi dividido em quatro fases, pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias). O programa de luz adotado foi de 24h de luz de 1 a 7 dias e 23h de luz de 8 a 42 dias.

Para obtenção das rações experimentais, em cada fase de criação, formulou-se a ração controle negativo (Tabela 2), considerando os valores nutricionais e energéticos dos ingredientes e as exigências nutricionais propostas por Rostagno *et al.* (2017), usando na sua

composição a inclusão 1,50% de um ingrediente inerte. As rações dos demais tratamentos foram obtidas pela substituição do inerte pelo promotor de crescimento e anticoccidiano ou do anacardato de cálcio e ácido cítrico, na proporção de cada tratamento.

Nas rações controle positivo foram adicionados: 33 g de Stafac 500 (50% Virginiamicina) + 500 g de Coxistac (12% de Salinomicina) por tonelada de ração.

Durante o período experimental, os dados de temperatura e umidade relativa do ar foram registrados por dois *dataloggers* instalados na altura das aves. As médias de temperatura ambiente e umidade relativa no galpão durante o experimento foram 29,22°C e 62,19 %, respectivamente.

Tabela 2- Composições, níveis nutricionais e energéticos calculados das rações experimentais controle negativo para frangos de corte nas diferentes fases de criação

Ingredientes	Fases (idade em dias)			
	1 a 7	8 a 21	22 a 35	36 a 42
Milho	48,20	50,03	58,62	65,55
Farelo de soja (45% PB)	42,60	40,03	32,71	26,94
Óleo de soja	3,33	4,41	3,45	2,78
Fosfato bicálcico (25% Ca, 19% P)	1,92	1,70	1,52	1,15
Calcário calcítico (37,7% Ca)	1,15	1,04	0,88	0,79
Sal comum	0,53	0,52	0,49	0,47
DL-metionina (99%)	0,32	0,31	0,27	0,23
L-lisina (54,6%)	0,20	0,21	0,30	0,34
L-treonina (98,5%)	0,05	0,05	0,06	0,05
Suplemento vitamínico ¹	0,15	0,15	0,15	0,15
Suplemento mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05
Inerte ³	1,50	1,50	1,50	1,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível energético e nutricional calculado				
Energia metabolizável (kcal/kg)	2975,00	3050,00	3100,00	3150,00
Proteína bruta (%)	24,00	23,00	20,50	18,50
Lisina digestível aves (%)	1,29	1,24	1,12	1,01
Metionina + cistina digestível (%)	0,96	0,92	0,83	0,75
Metionina digestível (%)	0,64	0,61	0,55	0,49
Treonina digestível (%)	0,85	0,82	0,74	0,67
Triptofano digestível (%)	0,27	0,26	0,22	0,19
Valina digestível (%)	1,00	0,96	0,85	0,76
Cálcio (%)	0,97	0,88	0,76	0,63
Fósforo disponível (%)	0,46	0,42	0,37	0,30
Sódio (%)	0,23	0,22	0,21	0,20
Cloro (%)	0,38	0,37	0,36	0,35
Potássio (%)	0,93	0,89	0,79	0,70

¹ Composição por Kg do produto: Vit. A 9.000.000,00 UI; Vit. D3 2.500.000,00 UI; Vit. E 20.000,00 UI; Vit. K3 2.500,00 mg; Vit. B1 2.000,00 mg; Vit. B2 6.000,00 mg; Vit. B6 3.000,38 mg; Vit. B12 15,00 mg; Ácido fólico 1.500,00 mg; ácido nicotínico 35000 mg; Ácido pantotênico 12.000,00 mg; Biotina 100mg; Selênio 250,00 mg; ² Composição por Kg do produto: Ferro 100.000,00 mg; cobre 20.000,00 mg; Manganês 130.000,00 mg; Zinco 130.000,10 mg; Iodo 2.000,00 mg; ³ Areia lavada.

3.2.3 Parâmetros sanguíneos

Aos 21 e 42 dias de idade, foi selecionada aleatoriamente uma ave por unidade experimental, as quais foram identificadas, pesadas e encaminhadas ao abatedouro, onde foram eutanasiadas, através de insensibilização por eletronarcose, seguida de corte na veia jugular e sangria, onde foi coletado sangue para avaliação dos parâmetros bioquímicos, hematológicos e status oxidativo detalhado posteriormente. Após, procedeu-se a escaldagem (água a 60°C por 3 minutos), depena e abertura da cavidade abdominal para retirada dos órgãos para análise do pH do conteúdo, desenvolvimento de órgãos, além da separação do fígado para análises de status oxidativo, descritas posteriormente. detalhadas posteriormente com posterior dissecação do proventrículo, da moela, dos intestinos, sendo avaliadas as porções duodeno, jejuno, íleo e cecos, e separação do fígado para análises de oxidação lipídica, descritas posteriormente.

Foram utilizados tubos esterilizados para coleta de três amostras de sangue, sendo duas em tubos sem anticoagulante para as análises dos parâmetros bioquímicos e oxidativo, e uma em tubos contendo EDTA para a determinação dos parâmetros hematológicos.

As amostras de sangue para a determinação dos parâmetros bioquímicos foram deixadas em temperatura ambiente para coagulação e posterior centrifugação a 3.000 rpm durante 15 minutos e depois dessorados, imediatamente congelados em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenadas a -8°C para posterior determinação dos níveis séricos de ácido úrico, creatinina, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, colesterol total, lipoproteína de baixa densidade, lipoproteína de alta densidade e triglicerídeos pelo método automatizado (Metrolab 2300 Plus) com kits cinéticos Weiner, conforme orientação do fabricante (Wiener Laboratório, Rosário, Argentina) e determinação dos parâmetros oxidativos descritos posteriormente.

A avaliação dos parâmetros hematológicos foi realizada por meio de hemograma. A determinação da hemoglobina foi realizada em contador automático veterinário de células (Hemascreen 18) e a determinação do volume globular foi realizada através da técnica do microhematócrito utilizando-se tubos capilares Perfecta® e centrífuga de microhematócrito. A determinação das proteínas plasmáticas totais foi realizada por refratometria através de refratômetro de mão QUIMIS® Q767. As determinações de hematimetria e leucometria foram realizadas a partir de uma única diluição que evidencia os eritrócitos e os leucócitos, utilizando-se a solução de Natt-Herrick. A técnica da leucometria específica foi realizada através de hematoscopia em aumento de 1000x (imersão) dos esfregaços corados pelo May-Grunwald-

Giemsa (MGG).

3.2.4 pH do conteúdo e desenvolvimento dos segmentos do trato gastrointestinal

Foram retirados o TGI e o fígado, com posterior dissecação do proventrículo, da moela, dos intestinos, sendo avaliadas as porções duodeno, jejuno, íleo e cecos.

O conteúdo presente em cada segmento do trato gastrointestinal foi colhido em béquer, diluído e homogeneizado em água destilada na proporção 1:1 e deixadas em descanso por 5 minutos. Em seguida, o pH foi mensurado por meio de um pHmetro de bancada previamente calibrado (HI 2222, Hanna Instruments, Woonsocket, Rhode Island, EUA). Posteriormente, estes órgãos foram pesados para o cálculo do peso relativo, expressos em percentagem de peso vivo.

3.2.5 Status oxidativo do sangue e fígado

O status oxidativo do sangue e do fígado foram avaliados por meio da determinação das concentrações de compostos fenólicos e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e da capacidade antioxidante. Previamente às análises, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente.

Para determinação do valor de TBARS no soro, em tubos foram adicionados 250 µL de soro, 400 µL de ácido perclórico 35%, que foram aquecidos em banho-maria a 37°C por 1 hora e posteriormente centrifugados a 1.400rpm por 10 minutos. Uma amostra de 600 µL de sobrenadante foi misturada a 200 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 1,2% e foram incubadas em banho-maria a 95°C por 1 hora. Após incubação, foram realizadas as leituras das absorbâncias das amostras em espectrofotômetro a 535nm. Os resultados foram expressos em nmol de MDA/mL (DRAPER; HADLEY, 1990).

Para avaliação dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante, o soro foi desproteinado. Para isso, uma mistura de 0,5 mL de soro e 0,5 mL de acetona foram agitadas durante 1 minuto e depois centrifugadas a 4°C (5.500 G; 5 minutos). O sobrenadante foi filtrado com uma pipeta de Pasteur com algodão para remover pequenas partículas, obtendo-se o extrato de soro (FERREIRA *et al.*, 2014).

Os componentes fenólicos foram mensurados segundo Parker *et al.* (2007). Em 100 µL do extrato final foi adicionado 0,5mL de reagente de Folin-Ciocalteu a 10% (v/v). Passados 3 minutos, foi adicionado 0,4 mL de carbonato de sódio (75%), incubado a 45°C por 25 minutos

em banho seco (ThermoMixer C, Eppendorf®) e a absorvância medida em espectrofotometro a 765 nm. A quantificação foi feita com base na curva padrão gerada com ácido gálico e os resultados expressos em equivalentes de ácido gálico $\mu\text{g/mL}$ de soro.

A capacidade antioxidante no soro foi avaliada pela capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil), de acordo com o procedimento descrito por Janaszewska e Bartos (2002). Uma alíquota de 400 μL de solução metanólica do radical livre DPPH (0,1mM) foi adicionado a 360 μL de tampão de fosfato (pH 7,4) mais 40 μL do extrato e homogeneizado em vórtex. Após 20 minutos foi lida a absorvância em espectrofotômetro (Femto 700 plus) a 505 nm. A inibição (descoloração) do radical livre DPPH foi calculada como a percentagem relativa de absorvância perdida da amostra no momento da leitura em relação ao controle.

Para determinação do TBARS no fígado, utilizou-se o método de extração ácido aquosa com adaptações (Cherian *et al.*, 2002). Assim, em um tubo de 15ml, foram pesados aproximadamente 2g de fígado triturado. Em seguida, foram adicionados 6,75 mL de ácido perclórico (3,86%) e 18,75 μL de BHT (4,5%) sendo o conteúdo homogeneizado em Vórtex por 30 segundos. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a 8500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro Whatman nº 1. Depois, 1 mL do filtrado foi colocado em tubo eppendorf adicionando-se em seguida 1 mL de solução aquosa 20 mM de TBA. Os tubos foram aquecidos em aquecedor (Eppendorf Thermo Mixer) por 30 minutos a 95°C sem agitação. A leitura da densidade óptica foi realizada em espectrofotômetro a 531 nm. A concentração de TBARS foi calculada através de uma curva padrão de malondialdeído (MDA) e os resultados expressos em MDA $\mu\text{g/g}$ da amostra.

3.2.6 Desempenho produtivo

O consumo de ração (g/ave) foi avaliado no período de 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade. Obtido pela diferença entre a ração fornecida no início do período de avaliação e a sobra ao final do período, sendo calculado o consumo de ração para cada unidade experimental e posteriormente dividido pelo número de aves, que foi corrigido, pela mortalidade registrada durante o período. O ganho de peso (g/ave) foi avaliado no período de 1 a 21 e 1 a 42 dias, sendo obtido pela diferença do peso médio da ave por unidade experimental entre o final e o início do período de avaliação. A conversão alimentar foi determinada dividindo-se o consumo de ração por ave pelo ganho de peso por ave para o período de avaliação.

3.2.7 Características de carcaça

A avaliação das características de carcaça foi realizada aos 42 dias de idade, quando um frango de cada parcela foi selecionado com base no peso médio da unidade experimental, identificado, submetido a jejum alimentar de seis horas, e posteriormente pesado, eutanasiado por meio de insensibilização por eletronarcolese, seguida de corte na veia jugular, sangria, escaldagem (água a 60°C), depena e evisceração. As carcaças limpas, sem pescoço, pés e vísceras foram pesadas para determinação do rendimento de carcaça, que foi expresso em percentagem de peso vivo. Em seguida, foram realizados cortes para retirada do peito, coxa+sobrecoxa e gordura abdominal, os quais foram pesados para o cálculo do rendimento em relação ao peso da carcaça quente.

3.2.8 Análise estatística

Para análise estatística dos dados, foi utilizado o software “*Statistical Analyses System*” (SAS, 2000). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento ANOVA, seguindo um modelo inteiramente casualizado. A comparação das médias foi realizada pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue

Na análise dos parâmetros hematológicos do sangue dos frangos de corte, aos 21 e 42 dias de idade (Tabela 3), observou-se que os diferentes parâmetros avaliados não foram influenciados significativamente pelos tratamentos. Segundo alguns pesquisadores (TESSARI *et al.*, 2006; BORSA *et al.*, 2009), a ausência de alterações nos parâmetros hematológicos pode estar relacionada à boa nutrição e à falta de desafios em locais onde são conduzidos os experimentos. Isso justifica a semelhança de resultados entre as aves alimentadas nos tratamentos controle negativo em relação às que receberam ração controle positivo ou às diferentes combinações de AnCa + AC. Por outro lado, evidencia que a associação do AnCa com AC até a mais elevada dose testada (0,75% AnCa + 0,75% AC) não promove alterações nesses parâmetros, mantendo a saúde das aves.

Tabela 3- Parâmetros hematológicos de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	HE ¹ (10 ⁶ uL)	HB ² (g/dL)	HT ³ (%)	VCM ⁴ (fL)	CHCM ⁵ (%)	Het ⁶ (%)	Linf ⁷ (%)	H/L ⁸	MON ⁹ (%)	Plaq ¹⁰ (10 ³ uL)	Prot. totais ¹¹ (g/dL)
1 a 21 dias de idade											
Controle negativo	2,47	9,67	30,00	122	32,20	12,33	78,00	0,16	9,67	201,33	3,07
Controle positivo	2,67	9,80	30,33	114	32,23	12,67	79,33	0,16	8,00	155,67	2,80
0,25% AnCa ¹² + 0,25% AC ¹³	2,28	8,40	32,00	120	31,10	13,00	78,50	0,19	8,50	135,25	2,75
0,50% AnCa + 0,25% AC	2,68	9,62	31,20	117	31,56	15,40	76,80	0,17	7,80	191,40	2,96
0,50% AnCa + 0,50% AC	2,40	9,30	29,00	122	32,10	13,25	77,50	0,18	8,75	146,00	2,80
0,75% AnCa + 0,25% AC	2,67	9,97	33,00	114	30,40	14,67	76,67	0,16	8,33	124,00	3,00
0,75% AnCa + 0,50% AC	2,60	9,48	30,00	117	31,35	13,75	77,25	0,18	9,00	147,50	2,90
0,75% AnCa + 0,75% AC	2,92	10,58	33,67	113	31,42	11,83	80,83	0,16	7,33	189,17	3,08
EPM ¹⁴	0,061	0,184	0,515	1,487	0,348	0,425	0,552	0,004	0,316	7,600	0,064
ANOVA ¹⁵ (<i>p</i> -valor)	0,1301	0,0949	0,2140	0,6881	0,9575	0,5265	0,2663	0,4900	0,5144	0,0702	0,8649
1 a 42 dias de idade											
Controle negativo	2,70	10,10	30,00	111,10	33,60	11,00	76,00	0,1400	13,00	163,00	3,40
Controle positivo	2,35	8,93	27,50	117,20	32,33	12,25	76,25	0,1600	11,50	148,50	2,55
0,25% AnCa + 0,25% AC	2,10	8,53	27,00	129,30	31,33	8,75	78,75	0,1125	9,75	162,00	2,55
0,50% AnCa + 0,25% AC	2,50	9,30	29,00	116,15	32,25	8,50	80,00	0,1100	11,50	163,00	2,90
0,50% AnCa + 0,50% AC	2,60	9,77	31,00	119,57	31,87	9,67	80,67	0,1267	9,00	170,00	2,60
0,75% AnCa + 0,25% AC	2,43	9,37	20,67	126,73	31,50	9,67	82,67	0,1167	7,67	197,33	3,00
0,75% AnCa + 0,50% AC	2,80	9,40	31,00	115,65	30,30	13,50	79,50	0,1750	7,00	156,00	2,40
0,75% AnCa + 0,75% AC	2,70	8,70	27,00	120,00	31,00	10,00	80,00	0,1300	10,00	220,00	2,20
EPM	0,065	0,151	0,141	1,937	0,321	0,689	1,207	0,010	0,695	8,0757	0,117
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0785	0,1980	0,6960	0,2900	0,6961	0,6403	0,9229	0,7546	0,5974	0,6589	0,6968

¹ Número total de hemácias; ² Hemoglobina; ³ Hematócrito; ⁴ Volume corpuscular médio; ⁵ Concentração de hemoglobina corpuscular média; ⁶ Heterófilos; ⁷ Linfócitos; ⁸ Relação heterófilos linfócitos; ⁹ Monócitos; ¹⁰ Plaquetas; ¹¹ Proteínas totais; ¹² Anacardato de cálcio; ¹³ Ácido cítrico; ¹⁴ Erro padrão da média; ¹⁵ Análise de variância.

Quanto aos parâmetros bioquímicos do sangue dos frangos de corte, aos 21 e 42 dias de idade (Tabela 4), observou-se que apenas os níveis séricos de ácido úrico aos 21 dias de idade foram influenciados significativamente pelos tratamentos. Conforme os resultados, as aves alimentadas com as rações controle negativo ou positivo apresentaram níveis de ácido úrico no sangue que não diferiram entre si, mas foram significativamente maiores que os determinados para as aves alimentadas com as diferentes combinações de AnCa + AC, cujos resultados não diferiram entre as diferentes doses de combinação.

Quanto à redução de ácido úrico no sangue em todas as doses de AnCa + AC pode ser associada a uma possível diminuição da atividade da enzima xantina oxidase, que catalisa a reação de conversão de xantina e hipoxantina em ácido úrico (PACHER *et al.*, 2006; SAUTIN; JOHNSON, 2008), uma vez que Trevisan *et al.* (2006), em seus estudos, verificaram que os ácidos anacárdicos apresentam a capacidade de inibir várias enzimas oxidativas, como a xantina oxidase.

Todavia Cruz *et al.* (2018) não observaram diferenças significativas no ácido úrico sanguíneo em frangos de corte aos 35 dias de idade quando estes receberam suplementação de anacardato de cálcio na ração até o nível de 1%, fato semelhante ao observado quando se avaliou os níveis de ácido úrico aos 42 dias de idade, que não variou significativamente entre os diferentes níveis de combinação AnCa + AC em relação aos resultados obtidos nas aves alimentadas com as rações controle negativo ou positivo. Segundo Freitas *et al.* (2022), a ausência de influência dos ácidos anacárdicos no nível de ácido úrico no sangue dos frangos após os 21 dias de idade pode indicar adaptação fisiológica das aves com o avançar da idade, como também, pode ter havido a contribuição da redução do nível de proteína bruta da ração, com a troca das rações utilizadas até 21 dias de idade pelas utilizadas de 21 a 42 dias. Além disso, segundo Dehghani-Tafti e Jahanian (2016), a redução do ácido úrico também pode estar relacionada à maior digestibilidade das proteínas com a presença de ácido orgânico. Ao reduzir o pH intestinal, pode aumentar a atividade de enzimas proteolíticas melhorando a digestão e a absorção de nutrientes (RAFACZ-LIVINGSTON *et al.*, 2005), além de favorecer o aumento da proporção de bactérias benéficas, reduzindo a competição por nutrientes (BIGGS; PARSONS, 2008; BOROJENI *et al.*, 2014).

Tabela 4- Parâmetros bioquímicos do sangue de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	Ácido úrico (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	AST ¹ (IU/L)	ALT ² (IU/L)	Triglicerídeos (g/dL)	Colesterol total (mg/dL)	LDL ³ (mg/dL)	HDL ⁴ (mg/dL)
1 a 21 dias de idade								
Controle negativo	6,91a	0,18	234,33	15,08	54,88	106,13	84,25	21,88
Controle positivo	6,38a	0,17	244,42	15,98	61,00	105,68	79,00	21,00
0,25% AnCa ⁵ + 0,25% AC ⁶	4,89b	0,15	245,67	13,17	55,80	108,00	83,80	24,20
0,50% AnCa + 0,25% AC	4,78b	0,14	239,42	13,50	53,50	103,03	84,25	20,90
0,50% AnCa + 0,50% AC	4,80b	0,15	241,50	13,92	56,00	106,18	79,00	27,18
0,75% AnCa + 0,25% AC	4,88b	0,17	242,50	15,75	52,75	107,40	84,00	23,40
0,75% AnCa + 0,50% AC	4,77b	0,18	238,33	14,42	54,00	107,57	86,67	20,90
0,75% AnCa + 0,75% AC	4,67b	0,17	242,60	14,90	52,33	109,27	86,50	22,77
EPM ⁷	0,184	0,008	1,932	0,413	0,811	0,580	0,634	0,772
ANOVA ⁸ (<i>p</i> -valor)	0,0004	0,9419	0,8905	0,7941	0,2902	0,2403	0,2926	0,1478
1 a 42 dias de idade								
Controle negativo	4,62	0,23	232,30	14,40	132,00	125,60	103,52	24,60
Controle positivo	4,46	0,28	236,08	15,03	139,17	126,92	109,08	25,47
0,25% AnCa + 0,25% AC	4,06	0,24	231,30	15,20	135,80	124,30	108,56	25,40
0,50% AnCa + 0,25% AC	4,03	0,23	238,83	14,67	135,00	128,08	104,55	24,12
0,50% AnCa + 0,50% AC	4,01	0,20	230,42	15,00	139,17	128,99	106,08	26,83
0,75% AnCa + 0,25% AC	4,02	0,21	237,70	14,20	140,00	129,50	104,18	24,80
0,75% AnCa + 0,50% AC	4,00	0,29	232,17	14,25	141,17	127,83	105,80	24,92
0,75% AnCa + 0,75% AC	4,03	0,21	233,00	15,00	142,60	128,10	104,45	24,10
EPM	0,061	0,011	3,972	0,266	3,608	0,715	0,785	0,349
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0507	0,3359	0,9994	0,9743	0,9981	0,7093	0,5745	0,5710

¹ Aspartato aminotransferase; ² Alanina aminotransferase; ³ Low density lipoprotein (lipoproteína de baixa densidade); ⁴ High density lipoprotein (lipoproteína de alta densidade); ⁵ Anacardato de cálcio; ⁶ Ácido cítrico; ⁷ Erro padrão da média; ⁸ Análise de variância.

Os parâmetros bioquímicos no sangue são indicativos de processos metabólicos normais ou anormais e podem estar relacionados ao bom ou mau desempenho das aves (ROTAVA *et al.*, 2008). Lesões hepáticas podem levar à diminuição da concentração de proteínas totais do plasma, pois o fígado é o órgão que sintetiza as proteínas, principalmente a albumina. Assim, a redução dessas proteínas com o uso de um alimento ou de um aditivo pode ser associada aos efeitos tóxicos desses (SCHMIDT *et al.*, 2007). Nesse contexto, considerando que os diferentes níveis de combinação AnCa + CA não alteraram a quantidade de proteínas totais no plasma dos frangos, pode-se inferir que a sua adição em até 0,75% AnCa + 0,75% AC não promoveu danos hepáticos, o que é corroborado pelos resultados para a dosagem de aspartato aminotransferase (AST) e Alanina aminotransferase (ALT).

O efeito da adição dos ácidos orgânicos ou de suas combinações com outros ácidos ou com diferentes fontes de compostos fenólicos na ração sobre os parâmetros sanguíneos de frangos de corte tem sido variável. Diferente do observado na presente pesquisa, Abdel-Fattah *et al.* (2008) demonstraram que a adição de ácido cítrico na ração diminuiu o colesterol total, contudo, em níveis de 1,5 e 3% de ácido cítrico. Nourmohammadi *et al.* (2010) observaram que o ácido cítrico aumentou o colesterol total e não alterou a atividade enzimática de AST e ALT.

Todavia, o ácido úrico sérico em frangos de corte foi significativamente reduzido com a suplementação de 0,25% de ácidos cítrico + 0,25% butírico (DEHGHANI; JAHANIAN, 2016) ou 0,25ml de produto comercial fitogênico/L de água de bebida (constituído por óleo de canela 3.000 mg/L + ácido cítrico 150 mg/L (KRAUZE *et al.*, 2021), o que se assemelha ao efeito na redução verificada para os frangos aos 21 dias de idade quando foram alimentados com as diferentes combinações de AnCa + AC.

Os resultados da presente pesquisa diferem, em parte, dos relatados por Cruz *et al.* (2018), que não observaram diferenças significativas nos parâmetros sanguíneos em frangos de corte aos 35 dias de idade quando estes receberam suplementação de anacardato de cálcio na ração até o nível de 1%.

3.3.2 pH do conteúdo e peso relativo de órgãos e segmento do trato digestório

O pH do conteúdo dos diferentes segmentos do trato digestório dos frangos de corte, mensurados aos 21 e 42 dias de idade, não variou significativamente entre os tratamentos (Tabela 5). Os valores de pH observados estão dentro da normalidade relatada na literatura para cada segmento.

Tabela 5- pH do conteúdo dos diferentes segmentos do trato gastrointestinal de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	Proventrículo	Moela	Duodeno	Jejuno	Íleo	Cecos
21 dias de idade						
Controle negativo	3,44	3,10	6,24	6,08	6,31	6,18
Controle positivo	3,46	3,23	6,34	6,02	6,52	6,55
0,25% AnCa ¹ + 0,25% AC ²	3,77	3,32	6,60	6,06	6,14	6,19
0,50% AnCa + 0,25% AC	3,56	3,16	6,45	5,90	6,37	6,37
0,50% AnCa + 0,50% AC	3,54	3,29	6,31	6,08	6,63	6,28
0,75% AnCa + 0,25% AC	3,23	3,17	6,50	6,16	6,63	6,51
0,75% AnCa + 0,50% AC	3,67	3,14	6,43	6,11	6,39	6,40
0,75% AnCa + 0,75% AC	3,69	3,48	5,80	5,91	6,55	6,27
EPM ³	0,069	0,046	0,073	0,042	0,048	0,076
ANOVA ⁴ (<i>p</i> -valor)	0,6389	0,5393	0,2121	0,7840	0,1357	0,9129
42 dias de idade						
Controle negativo	3,95	3,17	5,85	5,56	5,48	6,55
Controle positivo	4,01	3,68	6,03	5,84	6,01	6,59
0,25% AnCa + 0,25% AC	3,93	3,57	5,88	5,35	5,31	6,81
0,50% AnCa + 0,25% AC	3,71	3,18	6,03	5,61	5,58	6,86
0,50% AnCa + 0,50% AC	4,01	3,19	5,71	5,39	5,47	6,95
0,75% AnCa + 0,25% AC	4,06	3,49	5,92	5,55	5,51	6,81
0,75% AnCa + 0,50% AC	3,83	3,25	5,95	5,49	5,25	6,49
0,75% AnCa + 0,75% AC	3,93	3,33	6,03	5,46	5,23	6,81
EPM	0,057	0,054	0,028	0,052	0,075	0,046
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,8596	0,0958	0,0570	0,4095	0,1983	0,1266

¹ Anacardato de cálcio; ² Ácido cítrico; ³ Erro padrão da média; ⁴ Análise de variância.

Na literatura, os efeitos do uso de ácidos orgânicos isolados ou em combinações com outros ácidos ou aditivos fitogênicos sobre o pH do trato de frangos de corte tem se apresentado variável. Em geral, a expectativa relacionada ao uso de aditivos à base de ácidos orgânicos é a redução do pH, pois essa alteração pode aumentar a solubilidade e absorção de sais minerais (JIMÉNEZ-MORENO *et al.*, 2009) e contribuir para maior multiplicação de bactérias benéficas como as lácticas em relação às patogênicas (APPELT *et al.*, 2010), contudo, nem sempre modificações acontecem. Nourmohammadi e Khosravinia (2015) observaram redução no pH do conteúdo no papo, moela e intestino de frangos de corte alimentados com ração contendo 3% de ácido cítrico. Fikry *et al.*, 2021 observaram redução no pH do conteúdo do ceco de codornas alimentadas com doses de ácido cítrico. Yang *et al.* (2019) não encontraram diferença no pH do conteúdo do trato gastrointestinal com a suplementação de ácidos orgânicos.

A ausência de influência significativa da combinação AnCa + AC sobre o pH do trato digestório dos frangos, em parte, se assemelha ao que foi observado por Ferreira *et al.*,

(2020) para suínos em creche que não observaram redução no pH dos cecos, estômago e intestino delgado ao testar a adição máxima da associação de 1% AnCa + 1% AC.

No desenvolvimento dos órgãos e segmentos do trato digestório dos frangos aos 21 e 42 dias de idade (Tabela 6), observaram-se diferenças significativas entre os tratamentos somente para o peso relativo do duodeno aos 21 e aos 42 dias. Conforme os resultados, em ambas as idades, as aves alimentadas com as rações controle negativo e controle positivo apresentaram valores de peso relativo do duodeno que não diferiram entre si, contudo, foram significativamente menores que os determinados para as aves alimentadas com as combinações 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC. Não houve diferença significativa entre as diferentes combinações de AnCa + AC sobre esta variável.

O peso relativo do intestino fornece uma visão do desenvolvimento do sistema digestivo de aves (NIU *et al.*, 2018). Rahimi *et al.* (2011) mostraram que misturas de extratos de ervas contendo compostos fenólicos podem melhorar o peso relativo do intestino em frangos de corte. De forma semelhante, folhas fermentadas de uma planta medicinal conhecida como *Ginkgo biloba* aumentaram o peso do duodeno de frangos de corte, em comparação com o grupo controle (NIU *et al.*, 2018). No entanto, Altop (2019) não relatou mudança no peso do intestino com a suplementação em frangos de corte com caroço de cereja doce cru ou fermentado. O aumento do peso relativo do duodeno no atual estudo sugere que a suplementação dietética de ácido cítrico e anacardato de cálcio estimularam o desenvolvimento do sistema digestivo em frangos de corte. Matos *et al.* (2017) verificaram maior altura das vilosidades no duodeno em pesquisa com leitões alimentados com anacardato de cálcio em relação ao tratamento controle sem antibióticos. No duodeno são secretadas enzimas duodenais responsáveis pela digestão de carboidratos, lipídios e proteínas, o pâncreas também quimiotripsina e tripsina que continuam a digestão das proteínas no jejuno (ITO *et al.*, 2004). Dessa forma, o aumento no peso relativo do duodeno se mostra como efeito favorável da combinação de Anca+AC.

Tabela 6- Peso relativo do fígado, moela e de seguimentos do intestino de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	Peso relativo (%)					
	Fígado	Moela	Duodeno	Jejuno	Íleo	Cecos
	1 a 21 dias de idade					
Controle negativo	2,19	3,05	0,98c	1,86	1,17	0,53
Controle positivo	2,17	2,90	1,06bc	1,85	1,24	0,59
0,25% AnCa ¹ + 0,25% AC ²	2,20	3,18	1,05bc	1,93	1,15	0,54
0,50% AnCa + 0,25% AC	2,30	3,19	1,10abc	1,99	1,27	0,61
0,50% AnCa + 0,50% AC	2,32	2,83	1,03bc	1,92	1,28	0,62
0,75% AnCa + 0,25% AC	2,41	3,00	1,14abc	2,01	1,17	0,64
0,75% AnCa + 0,50% AC	2,42	2,94	1,19ab	2,10	1,31	0,59
0,75% AnCa + 0,75% AC	2,35	3,32	1,25a	2,04	1,25	0,65
EPM ³	0,027	0,059	0,018	0,027	0,022	0,013
ANOVA ⁴ (<i>p</i> -valor)	0,0892	0,4601	0,0008	0,2359	0,5683	0,2456
	1 a 42 dias de idade					
Controle negativo	1,72	1,73	0,51c	0,95	0,72	0,38
Controle positivo	1,58	1,78	0,49c	0,97	0,71	0,35
0,25% AnCa + 0,25% AC	1,69	1,62	0,57abc	0,99	0,68	0,37
0,50% AnCa + 0,25% AC	1,73	1,59	0,56abc	1,04	0,70	0,40
0,50% AnCa + 0,50% AC	1,73	1,63	0,55abc	1,02	0,78	0,43
0,75% AnCa + 0,25% AC	1,79	1,64	0,57abc	1,04	0,78	0,34
0,75% AnCa + 0,50% AC	1,82	1,67	0,60a	1,05	0,79	0,36
0,75% AnCa + 0,75% AC	1,86	1,78	0,59ab	0,97	0,77	0,35
EPM	0,024	0,025	0,009	0,013	0,012	0,009
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,1104	0,3778	0,0067	0,4296	0,1472	0,2932

¹ Anacardato de cálcio; ² Ácido cítrico; ³ Erro padrão da média; ⁴ Análise de variância; ^{a,b} Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste SNK (5%).

3.3.3 Status oxidativo do sangue e fígado

Na avaliação da quantidade de compostos fenólicos, capacidade antioxidante e oxidação lipídica determinadas no soro do sangue e no fígado frangos aos 21 e 42 dias de idade (Tabela 7), observou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos para a proporção de compostos fenólicos, em ambas as idades, e capacidade antioxidante e a oxidação lipídica, aos 21 dias de idade. Contudo, houve diferença significativa para capacidade antioxidante e oxidação lipídica no sangue, aos 42 dias de idade, e oxidação lipídica no fígado, aos 21 e 42 dias de idade.

Tabela 7- Status oxidativo do sangue e do fígado de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	Sangue			Fígado
	Fenólicos (EqAG µg/ mL)	DPPH ¹ (%)	TBARS ² (MDA nmol/ mL)	TBARS (MDA µg/g)
21 dias de idade				
Controle negativo	73,55	17,72	3,19	4,01a
Controle positivo	72,92	18,21	2,97	3,35b
0,25% AnCa ³ + 0,25% AC ⁴	74,10	18,18	2,99	3,36b
0,50% AnCa + 0,25% AC	74,78	18,22	3,03	3,20b
0,50% AnCa + 0,50% AC	74,98	18,50	3,03	3,18b
0,75% AnCa + 0,25% AC	75,12	18,62	3,09	3,22b
0,75% AnCa + 0,50% AC	75,52	18,96	3,11	3,31b
0,75% AnCa + 0,75% AC	75,71	18,91	3,13	3,34b
EPM ⁵	0,500	0,120	0,021	0,060
ANOVA ⁶ (<i>p</i> -valor)	0,8774	0,1300	0,0950	0,0051
42 dias de idade				
Controle negativo	83,37	28,99c	3,66a	4,28a
Controle positivo	84,96	30,16bc	3,38ab	3,44b
0,25% AnCa + 0,25% AC	86,86	30,12bc	3,28b	3,31b
0,50% AnCa + 0,25% AC	86,35	31,31ab	3,25b	3,26b
0,50% AnCa + 0,50% AC	86,58	32,39a	3,24b	3,40b
0,75% AnCa + 0,25% AC	87,36	31,63ab	3,23b	3,40b
0,75% AnCa + 0,50% AC	87,70	31,75ab	3,44ab	3,38b
0,75% AnCa + 0,75% AC	88,03	31,85ab	3,50ab	3,42b
EPM	0,750	0,230	0,033	0,064
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,8327	0,0002	0,0025	0,0002

¹ radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil; ² Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ³ Anacardato de cálcio; ⁴ Ácido cítrico; ⁵ Erro padrão da média; ⁶ Análise de variância; ^{a,b} Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste SNK (5%).

A capacidade antioxidante mensurada pelo radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) no sangue dos frangos aos 42 dias de idade foi significativamente menor nas aves alimentadas com ração controle negativo, diferindo apenas em relação aos resultados obtidos com as rações contendo 0,50% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC; 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC. Ademais, observou-se maior capacidade antioxidante no tratamento com 0,50% AnCa + 0,50% AC em relação aos obtidos com a ração controle positivo e 0,25% AnCa + 0,25% AC.

Para oxidação lipídica no sangue determinada aos 42 dias de idade, observou-se que a diferença significativa ficou restrita aos resultados obtidos para o as aves alimentadas com a

ração controle negativo em relação às tratadas com as combinações de 0,25% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,50% AC; e 0,75% AnCa + 0,25% AC. Para oxidação lipídica no fígado, em ambas as idades, as aves alimentadas com a ração controle negativo apresentaram maior oxidação lipídica no fígado em relação às aves que foram alimentadas com ração controle positivo ou as diferentes combinações de AnCa + AC, não havendo diferença entre estes tratamentos.

Embora não tenha havido diferença significativa, observou-se que a adição do AnCa + AC promoveram aumento numérico na concentração de compostos fenólicos no sangue dos frangos, principalmente nos valores determinados aos 42 dias de idade. Dessa forma, a ação antioxidante dos ácidos anacárdicos pode ter contribuído para maior capacidade antioxidante no sangue das aves alimentadas com as rações contendo 0,50% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC; 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC. Certamente, esses compostos também contribuíram com a redução da oxidação lipídica no sangue das aves alimentadas com as rações contendo 0,25% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,25% AC.

Todavia, a semelhança nos resultados de oxidação lipídica no sangue entre as aves alimentadas com ração controle negativo e as alimentadas com 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC pode ser um indicativo de que com os níveis mais elevados de AnCa + AC pode ter ocorrido maior dissociação dos ácidos anacárdicos, com maior absorção e presença no sangue e, conseqüentemente, o início de um efeito pro-oxidante destes compostos. Esse efeito também foi relatado por Abreu *et al.* (2017) e Braz *et al.* (2019) com adição de 1% de líquido da castanha de caju como fonte de ácidos anacárdicos na alimentação de poedeiras e Abreu *et al.* (2019) para adição de 1% AnCa na alimentação de frangos de corte. Todavia para a oxidação lipídica no fígado as diferentes combinações de AnCa + AC foram benéficas, indicando a possibilidade de utilização de até 0,75% AnCa + 0,75% AC.

3.3.4 Desempenho produtivo

Quanto ao desempenho das aves no período de 1 a 21 dias de idade (Tabela 8), observou-se diferença significativa entre os tratamentos para o consumo de ração, ganho de peso e peso final das aves aos 21 dias de idade, enquanto a conversão alimentar não foi influenciada significativamente.

Conforme os resultados, as aves alimentadas com as rações controle negativo ou controle positivo não diferiram quanto ao consumo de ração, ganho de peso e peso final,

enquanto que as aves alimentadas com 0,25% AnCa + 0,25% AC apresentaram consumo de ração semelhante aos das aves alimentadas com ração controle negativo ou ração controle positivo, porém, o ganho de peso e peso final foram significativamente menores em relação aos resultados obtidos com a ração controle positivo e superiores aos dos demais níveis de combinações do AnCa + AC. Por sua vez, as aves alimentadas com a adição na ração de 0,50% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC; 0,75% AnCa + 0,50% AC ou 0,75% AnCa + 0,75% AC não diferiram entre si, todavia, apresentaram menor consumo de ração, ganho de peso e peso final em relação às aves alimentadas com as rações controle negativo, controle positivo ou 0,25% AnCa + 0,25% AC na ração.

No período de 1 a 42 dias de idade, observou-se diferença significativa entre os tratamentos para o consumo de ração e a conversão alimentar, enquanto, o ganho de peso e o peso final das aves aos 42 dias de idade não foram influenciados. A diferença no consumo de ração ocorreu entre os resultados obtidos para as aves alimentadas com a ração controle negativo ou 0,25% AnCa + 0,25% AC em relação às alimentadas com 0,75% AnCa + 0,25% AC ou 0,75% AnCa + 0,75% AC, que apresentaram menor consumo de ração. Quanto à conversão alimentar, a diferença significativa foi observada entre os resultados obtidos para as aves alimentadas com ração controle negativo, controle positivo ou 0,25% AnCa + 0,25% AC em relação às alimentadas com 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC ou 0,75% AnCa + 0,50% AC, que apresentaram os melhores resultados de conversão alimentar.

Os efeitos da maior inclusão da associação AnCa + AC nas rações da fase de 1 a 21 dias de idade se assemelham em parte aos relatados por Freitas *et al.* (2022), que avaliaram a inclusão do anacardato de cálcio na ração de frangos de corte. Segundo os pesquisadores, o consumo de ração na fase de 1 a 21 dias de idade não foi influenciado pela adição, contudo, o ganho de peso reduziu com a adição a partir de 0,50% AnCa e a conversão alimentar piorou a partir de 0,75% em relação aos resultados obtidos com a ração com as rações controle negativo e controle positivo.

Segundo Freitas *et al.* (2022), os efeitos adversos do anacardato de cálcio no desempenho até 21 dias de idade podem ser associados à ação inibidora dos ácidos anacárdicos na xantina oxidase, dificultando o metabolismo do nitrogênio e, conseqüentemente, comprometendo o crescimento das aves, fato que é corroborado com os resultados obtido na presente pesquisa, visto que as aves alimentadas com as diferentes combinações de AnCa + AC apresentaram menor concentração de ácido úrico no sangue aos 21 dias de idade. Segundo Russek (1971), a amônia sérica pode ser um regulador de consumo de ração pelas aves. Logo, essa redução no consumo de ração pode estar associada à tentativa de evitar toxicidade com o

maior nível de amônia sérico provocado pela menor atividade da enzima xantina oxidase que ocasionou em menor nível de ácido úrico sérico.

Tabela 8-Desempenho dos frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	Consumo de ração (kg/ave)	Ganho de peso (kg/ave)	Conversão Alimentar (kg/kg)	Peso final (kg/ave)
1 a 21 dias de idade				
Controle negativo	1273,41a	1034,00ab	1,23	1070,94ab
Controle positivo	1282,61a	1047,33a	1,22	1084,61a
0,25% AnCa ¹ + 0,25% AC ²	1239,63a	996,50b	1,25	1033,57b
0,50% AnCa + 0,25% AC	1153,65b	934,50c	1,23	972,08c
0,50% AnCa + 0,50% AC	1155,12b	949,17c	1,22	986,67c
0,75% AnCa + 0,25% AC	1123,22b	921,50c	1,22	958,47c
0,75% AnCa + 0,50% AC	1097,90b	891,67c	1,23	929,33c
0,75% AnCa + 0,75% AC	1127,53b	892,50c	1,27	929,01c
EPM ³	11,530	9,592	0,006	9,600
ANOVA ⁴ (<i>p</i> -valor)	0,0001	0,0001	0,4821	0,0001
1 a 42 dias de idade				
Sem aditivos	4772,90a	3065,87	1,56 ^a	3103,00
Com aditivos	4679,30ab	3027,17	1,55 ^a	3064,50
0,25% AnCa + 0,25% AC	4790,90a	3079,31	1,56 ^a	3116,33
0,50% AnCa + 0,25% AC	4586,60ab	3109,75	1,48ab	3147,50
0,50% AnCa + 0,50% AC	4489,00ab	3065,81	1,46b	3103,00
0,75% AnCa + 0,25% AC	4463,70b	3038,68	1,47b	3076,00
0,75% AnCa + 0,50% AC	4485,70ab	3050,75	1,47b	3088,33
0,75% AnCa + 0,75% AC	4386,50b	2918,70	1,50ab	2955,50
EPM	31,485	22,791	0,009	22,840
ANOVA (<i>p</i> -valor)	0,0013	0,6341	0,0035	0,6322

¹ Anacardato de cálcio; ² Ácido cítrico; ³ Erro padrão da média; ⁴ Análise de variância; ^{a,b} Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste SNK (5%).

Quanto aos efeitos da adição do AnCa+AC quando se considerou o período total de criação (1 a 42 dias de idade), os resultados obtidos divergem dos relatados por Freitas *et al.* (2022), que não observaram qualquer influência da adição de até 1% de AnCa sobre o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar dos frangos no período de 1 a 42 dias de idade. Contudo, os pesquisadores, relataram que as diferenças entre os resultados da fase de 1 a 21 e de 1 a 42 dias de idade, evidenciaram que os efeitos adversos da adição do anacardato de cálcio verificados no desempenho até 21 dias de idade tendem a desaparecer após essa fase, não comprometendo o desempenho quando se considera o período total de criação. Nesse contexto, os resultados obtidos nesta pesquisa corroboram essa observação.

Todavia, diferente das observações de Freitas *et al.* (2022), os resultados obtidos neste estudo evidenciaram ação melhoradora do desempenho com a associação AnCa + AC,

uma vez que houve melhor utilização do alimento ingerido para o ganho de peso, com as combinações 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC ou 0,75% AnCa + 0,50% AC em relação aos resultados obtidos com as rações controle negativo ou positivo. Esse efeito corrobora com as observações de Ferreira *et al.* (2020), que verificaram melhora na conversão alimentar de suínos na fase de creche alimentados com a associação de ácido cítrico e anacardato de cálcio em relação aos animais alimentados sem promotor de crescimento, sendo o resultado obtido semelhante ao do uso de promotor antibiótico.

A melhora na conversão alimentar tem sido muito utilizada para avaliar os efeitos de promotores de crescimento alternativos aos promotores antibióticos, pois é fator primordial na lucratividade econômica na produção de frangos de corte (Yang *et al.*, 2019). Nesse contexto, a adição de 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC ou 0,75% AnCa + 0,50% AC durante todo período de criação dos frangos pode ser recomendado, uma vez que as aves alimentadas com esses níveis na ração apresentaram consumo de ração, ganho de peso e peso final aos 42 dias de idade semelhantes aos das aves alimentadas com ração controle positivo, contudo, com melhor conversão alimentar.

Todavia, se considerar os custos com a maior inclusão de aditivos na ração e que os resultados entre estes níveis não diferiram, a inclusão de 0,50% AC + 0,50% AC pode ser mais adequada, obtendo-se melhor desempenho e estado oxidativo no sangue e fígado dos frangos aos 42 dias de idade. Vale destacar que o efeito da adição dos ácidos orgânicos ou de suas combinações com outros ácidos ou com diferentes fontes de compostos fenólicos na ração sobre os parâmetros de desempenho dos frangos de corte tem sido variável. Isso se deve ao fato de que a resposta ao uso desses aditivos na produção de frangos de corte apresenta variabilidade em função da dose utilizada, composição da dieta, desafio sanitário, ambiente, manejo e diferenças na idade das aves (SCICUTELLA *et al.*, 2021; FREITAS *et al.*, 2022).

3.3.5 Características de carcaça

Na avaliação das características de carcaça aos 42 dias de idade (Tabela 9), observou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos aplicados para nenhuma das variáveis analisadas.

Os resultados de características de carcaça dessa pesquisa corroboram com os relatados por Freitas *et al.* (2022) que não encontraram diferenças significativas para o rendimento de carcaça, cortes nobres (peito e coxa+sobrecoxa) e percentual de gordura abdominal de frangos de corte alimentados com até 1% de anacardato de cálcio na ração.

Vale destacar que o efeito da adição dos ácidos orgânicos ou de suas combinações com outros ácidos ou com diferentes fontes de compostos fenólicos na ração sobre as características de carcaça dos frangos de corte tem sido variável. Semelhante ao relatado por outras pesquisas que não encontraram diferenças nas características de carcaça ao avaliar ácidos orgânicos ou aditivos fitogênicos (GUNGOR; ERENER, 2019). Entretanto, outros estudos encontraram melhoras com a utilização de promotores de crescimento alternativos sobre o rendimento de carcaça e partes nobres de frangos de corte, com melhora no rendimento do peito, da carcaça e diminuição da porcentagem da gordura abdominal (ALÇIÇEK *et al.*, 2003; FASCINA *et al.*, 2012; MEDEIROS *et al.*, 2012). Dehghani-Tafti e Jahanian (2016) verificaram aumento no rendimento de carcaça com a inclusão de ácidos cítrico e butírico na dieta de frangos de corte. Chowdhury *et al.* (2009) também verificaram aumento no rendimento de carcaça com a combinação de ácido cítrico e avilamicina nas dietas de frangos de Corte.

Tabela 9- Características de carcaça de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	Rendimento (%)			
	Carcaça	Peito	Coxa+sobrecoxa	Gordura
Controle negativo	76,22	28,23	23,17	0,518
Controle positivo	76,17	28,86	23,49	0,552
0,25% AnCa ¹ + 0,25% AC ²	76,06	29,32	23,16	0,530
0,50% AnCa + 0,25% AC	76,12	29,62	23,11	0,522
0,50% AnCa + 0,50% AC	76,40	29,23	24,13	0,542
0,75% AnCa + 0,25% AC	75,39	29,71	22,75	0,483
0,75% AnCa + 0,50% AC	75,69	28,74	22,71	0,533
0,75% AnCa + 0,75% AC	75,75	28,94	23,67	0,562
EPM ³	0,189	0,194	0,196	0,018
ANOVA ⁴ (<i>p</i> -valor)	0,9250	0,6159	0,6690	0,9832

¹ Anacardato de cálcio; ² Ácido cítrico; ³ Erro padrão da média; ⁴ Análise de variância.

Em experimento com ratos, Toyomizu *et al.* (2003) verificaram que o ácido anacárdico tem potencial para reduzir a deposição de gordura corporal em ratos quando submetidos à dieta que normalmente promovem maior deposição de gordura. Contudo, no presente experimento, não foi verificada alteração na gordura abdominal em frangos de corte alimentados com dietas contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico.

Todavia como não foi observada alteração de nenhuma variável analisada para as aves que receberam os aditivos, não há prejuízo com a utilização das combinações de anacardato de cálcio e ácido cítrico.

3.4 Conclusão

A concentração de ácido úrico sanguíneo em frangos até 21 dias reduz com a adição de anacardato de cálcio e ácido cítrico em todos os níveis testados. O consumo de ração e ganho de peso reduzem com a adição das combinações de 0,50% AnCa e 0,25% AC; 0,50% AnCa e 0,50% AC; 0,75% AnCa e 0,25% AC; 0,75% AnCa e 0,50% AC e 0,75% AnCa e 0,75% AC.

Contudo, quando se considera o período total de criação, pode-se recomendar a adição de 0,50% AnCa + 0,50% AC, visto que esta combinação melhora o estado oxidativo no sangue e fígado dos frangos aos 42 dias de idade e a conversão alimentar.

4 ANACARDATO DE CÁLCIO E ÁCIDO CÍTRICO NA RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE: COMPOSTOS FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ESTABILIDADE LIPÍDICA E QUALIDADE DA CARNE

RESUMO

O objetivo com esta pesquisa foi avaliar os efeitos da adição de combinações de anacardato de cálcio com ácido cítrico na ração de frangos de corte sobre os parâmetros de qualidade da carne, concentração de compostos fenólicos, potencial e atividade antioxidante e oxidação lipídica da carne *in natura* e armazenada. Foram avaliadas amostras da carne do peito de frangos de corte oriundas de um ensaio em que 768 pintos machos com 1 dia de idade foram distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado com oito tratamentos e seis repetições de 16 aves por parcela. Os tratamentos foram constituídos por: ração controle negativo; ração controle positivo; ração com 0,25% AnCa (Anacardato de cálcio) + 0,25% AC (Ácido cítrico); ração com 0,50% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,50% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,75% AC. Conforme os resultados para as variáveis pH, perdas por gotejamento e cocção, e parâmetros de coloração não houve diferença significativa entre os tratamentos. O potencial (DPPH) e a atividade (ABTS) antioxidante aumentaram com a adição a partir de 0,50% AnCa + 0,50% AC em relação aos tratamentos controle negativo e controle positivo. Quanto aos compostos fenólicos, todos tratamentos com combinações de AnCa + AC apresentaram maior concentração em relação ao tratamento controle negativo. Na avaliação da estabilidade lipídica da carne, observou-se que a carne *in natura* e armazenada oriundas de aves alimentadas com as diferentes combinações de AnCa + AC apresentaram melhores valores comparados ao tratamento controle negativo. Entre as diferentes combinações de AnCa + AC, as rações contendo 0,50% AnCa + 0,25% AC; 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC; 0,75% AnCa + 0,50% AC; ração ou 0,75% AnCa + 0,75% AC proporcionaram semelhante quantidade de compostos fenólicos, atividade e capacidade antioxidante e estabilidade lipídica da carne. Contudo, a adição de 0,50% AnCa + 0,50% AC se mostrou suficiente para proporcionar melhoria nestes parâmetros em relação às aves alimentadas com as rações controle negativo ou controle positivo.

Palavras-chave: antioxidante, ácido anacárdico, ácido orgânico, composto fenólico, qualidade da carne.

Calcium anacardate and citric acid in broiler chicken feed: phenolic compounds, antioxidant activity, lipid stability and meat quality

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effects of adding combinations of calcium anacardate with citric acid in broiler diets on meat quality parameters, concentration of phenolic compounds, potential and antioxidant activity and lipid oxidation of fresh meat and stored. Samples of breast meat from broiler chickens from an assay in which 768 male chicks, 1 day old, were distributed in a completely randomized experimental design with eight treatments and six replications of 16 birds per parcel plot. The treatments consisted of rations, which were: negative control ration; positive control ration; feed with 0.25% AnCa (Calcium anacardate) + 0.25% AC (Citric acid); feed with 0.50% AnCa + 0.25% AC; feed with 0.50% AnCa + 0.50% AC; feed with 0.75% AnCa + 0.25% AC; feed with 0.75% AnCa + 0.50% AC; feed with 0.75% AnCa + 0.75% AC. According to the results for the variables pH, dripping and cooking losses, and color parameters, there was no significant difference between treatments. The antioxidant potential (DPPH) and activity (ABTS) increased with the addition of 0.50% AnCa + 0.50% AC in relation to negative control and positive control treatments. As for phenolic compounds, all treatments with combinations of AnCa + AC showed higher concentrations compared to the negative control treatment. In the evaluation of the lipid stability of the meat, it was observed that the fresh and stored meat from birds fed with the different combinations of AnCa + AC presented better values compared to the negative control treatment. Among the different combinations of AnCa + AC, the diets containing 0.50% AnCa + 0.25% AC; 0.50% AnCa + 0.50% AC; 0.75% AnCa + 0.25% AC; 0.75% AnCa + 0.50% AC; ration or 0.75% AnCa + 0.75% CA provided similar quantity amount of phenolic compounds, activity and antioxidant capacity and lipid stability of the meat. However, the addition of 0.50% AnCa + 0.50% CA proved to be sufficient to provide improvement in these parameters in relation to birds fed with negative control or positive control diets.

Keywords: antioxidant, anacardic acid, organic acid, phenolic compound, meat quality.

4.1 Introdução

A elevada taxa de crescimento imposta ao frango de corte para maior eficiência do sistema de produção, naturalmente, submete as aves a altas taxas metabólicas e, conseqüentemente, a maior geração de radicais livres resultante do intenso metabolismo dos nutrientes. Podendo favorecer um quadro de estresse oxidativo, quando a geração espécies reativas de oxigênio é superior a capacidade do sistema de defesa antioxidante do organismo (BERNABUCCI *et al.*, 2002).

Os danos causados pelo estresse oxidativo podem afetar negativamente o desempenho das aves (FARIAS *et al.*, 2020), a qualidade da carne, por aumentar à oxidação lipídica (FREITAS *et al.*, 2015), além de acelerar o processo de deterioração, reduzindo a sua vida de prateleira (YOUNG *et al.*, 2003; SMET *et al.*, 2008) e, conseqüentemente, gerando perdas econômicas para a indústria (XING *et al.*, 2019).

Existe uma tendência global de eliminar gradualmente os aditivos alimentares sintéticos que tradicionalmente são utilizados na produção animal para proteger as rações e as aves dos efeitos deletérios da oxidação lipídica. Nesse cenário, os aditivos fitogênicos têm ganhado atenção para uso na alimentação de frangos de corte, pois em função das moléculas bioativas que estão em sua composição muitas das ações biológicas tem beneficiado as aves, podendo melhorar o status oxidativo e a qualidade da carne.

Vários extratos de plantas vêm se destacando por apresentarem propriedades antioxidantes (MURUGESAN *et al.*, 2015). O ácido anacárdico, é um composto fenólico que naturalmente pode ser encontrado em maior proporção no líquido da castanha de caju, fruto da planta *Anacardium occidentale*. O ácido anacárdico apresenta várias atividades biológicas, com destaque para sua atividade antioxidante, prevenindo os danos oxidativos para o animal e seus produtos (FREITAS *et al.*, 2022). Braz *et al.* (2017), utilizando líquido da castanha de caju como fonte natural de ácidos anacárdicos na alimentação de poedeiras comerciais, observaram menor oxidação lipídica nos órgãos do sistema reprodutivo de galinhas e nos ovos. Freitas *et al.* (2022) avaliaram o uso do anacardato de cálcio como fonte de ácidos anacárdicos na alimentação de frangos de corte e relataram redução na oxidação lipídica da carne, evidenciando o seu potencial antioxidante quando adicionado até o nível de 0,75% na ração e pro-oxidante em níveis superiores a este.

O ácido cítrico é um ácido eficaz na redução do pH da ração e, também, pode apresentar efeito sinérgico como antioxidante, prevenindo a oxidação de óleos e gorduras (Braz *et al.*, 2011). Assim, a administração do anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico pode

promover uma redução do pH no trato gastrointestinal da ave favorecendo a dissociação dos sais de anacardato de cálcio em ácido anacárdico e íons de cálcio, permitindo que este na forma livre atue no lúmen intestinal e possa ser mais absorvido pelo organismo.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da adição de diferentes combinações de anacardato de cálcio e ácido cítrico na ração de frangos de corte sobre os parâmetros de qualidade de carne, concentração de compostos fenólicos, potencial e atividade antioxidante e oxidação lipídica da carne.

4.2 Material e métodos

Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob o protocolo N° 4438250719, e estão de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

4.2.1 Produção do anacardato de cálcio

Os procedimentos de extração do líquido da casca da castanha de caju e produção do anacardato de cálcio foram realizados no laboratório de extração (LAEX), localizado no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC).

As cascas da castanha de caju foram adquiridas de empresa que realiza o beneficiamento da castanha para extração da amêndoa, localizada no município de Pacajus, Ceará, Brasil. Nas instalações do LAEX, inicialmente as cascas da castanha foram trituradas em picador forrageiro (GTI-2000 LDF) e, em seguida, acondicionadas em recipientes de vidro, onde permaneceram imersas em etanol 99,5 °GL, na proporção de 1:1, durante sete dias, em temperatura ambiente. Após este período a mistura foi filtrada com o auxílio de um tecido (TNT) de 0,5mm, obtendo o líquido da castanha de caju (LCC) mais etanol. Após esse procedimento foi adicionado mais álcool no mesmo material até ficar imerso novamente por mais 7 dias, e posteriormente foi realizado o mesmo procedimento para retirada do LCC mais etanol.

O LCC obtido na primeira e na segunda filtração foi homogeneizado e a quantidade média de etanol e LCC na mistura foi determinada, submetendo-se três amostras da mistura à evaporação em evaporador rotativo (Evaporador Rotativo TE – 210®, Tecnal, Piracicaba, Brasil), a 50°C, rotação de 60 rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente (etanol) e

obtenção do LCC. As concentrações obtidas na solução foram de 25,5% de LCC e 74,5% de etanol.

O anacardato de cálcio foi obtido segundo metodologia apresentada por Paramashivappa *et al.* (2001), com adaptações propostas por Trevisan *et al.* (2006), em que a partir da reação dos ácidos anacárdicos presente no LCC com hidróxido de cálcio, forma-se um sal de cálcio que se precipita da mistura e pode ser separado. Para isso, em um béquer com capacidade de 4L foram adicionados 2.157mL da solução de LCC+ etanol (550mL de LCC e 1.607mL de etanol), 150 mL de água destilada e 250g de hidróxido de cálcio dissolvidos em 1.243mL de etanol. Essa mistura foi aquecida com agitação (Agitador Magnético com Aquecimento – Q261-22, Quimis, Diadema, Brasil), até atingir a temperatura de 50°C, permanecendo nessa condição por 4h. Ao final do período, a mistura foi deixada em descanso para a decantação por 1 hora. Em seguida, o sobrenadante foi retirado e adicionado 800 mL de etanol à massa decantada que foi submetida a uma nova agitação e aquecimento por mais 1 hora. Novamente a mistura foi deixada para decantação por igual período e foi retirado o sobrenadante. O material precipitado foi retirado e filtrado com o auxílio de um tecido (TNT) de 0,5mm, para a separação do anacardato de cálcio e dos resíduos do sobrenadante que ainda estavam misturados ao precipitado. O anacardato de cálcio, retido no TNT, foi encaminhado para secagem em estufa de ventilação forçada (Estufa de secagem - MA035/5/10P, Marconi, Piracicaba, Brasil) a 55°C por 72 horas, e então triturado.

A análise de quantificação dos ácidos anacárdicos no anacardato de cálcio foram realizadas no laboratório de produtos naturais do Departamento de Química da UFC. Para esta análise, a amostra de anacardato de cálcio foi convertida em ácidos anacárdicos conforme procedimento descrito por Paramashivappa *et al.* (2001), em que uma alíquota de 1,1 gramas de anacardato de cálcio foi transferida para um Erlenmeyer com 3 mL acetato de etila, 8,8 mL água e 1,2 mL de HCl P.A, submetido à mistura sob vigorosa agitação durante 1 h e posteriormente filtrada em funil de Büchner. O filtrado foi transferido para um funil de separação, onde foi realizada uma partição líquida - líquido com acetato de etila (2x 3 mL), obtendo uma fase orgânica rica em ácidos anacárdicos, que foi posteriormente lavada com água Mili – Q (200 mL) e seca com sulfato de sódio anidro.

O extrato foi submetido à rotaevaporação para eliminação do solvente e obtenção de uma fração contendo apenas os ácidos anacárdicos que foi quantificada por meio de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) com detector DAD (Diode Array Detector) da marca Agilent operando na faixa ultravioleta com coluna analítica C-18 Latek (5 µm, 250 x 4 mm) em uma corrente de mL.min⁻¹ com volume de injeção de 10µL. O detector DAD foi

ajustado nos comprimentos de onda de 254, 278, 325 e 340 nm, onde os ácidos anacárdicos têm picos de absorção mais elevados em UV-VIS. A quantidade de ácidos anacárdicos presentes no anacardato de cálcio foi de 66,65%.

4.2.2 localização, delineamento, tratamentos, manejo e abate das aves

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da UFC em um galpão com dimensões de 15 m x 10 m, provido de 48 boxes de 1,0 x 1,5 m com o piso coberto com maravalha e equipado com comedouros tubular e bebedouro pendular.

Foram utilizados 768 pintos machos de frangos de corte da linhagem Ross 308 AP95 com 1 dia de idade, vacinados no incubatório contra a doença de Marek e Gumboro. Aos 7 dias os pintos foram vacinados contra a doença de Newcastle. Conforme recomendações de Sakomura e Rostagno (2016), os pintos foram distribuídos seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado com oito tratamentos e seis repetições de 16 aves por unidade experimental, totalizando 96 aves por tratamento. O peso foi o critério utilizado para uniformização das unidades experimentais, cuja média de peso do pintinho foi de $36,78 \text{ g} \pm 0,57$.

Os tratamentos foram constituídos por: ração controle negativo (sem promotor de crescimento e sem anticoccidiano); ração controle positivo (com promotor de crescimento e anticoccidiano); rações com níveis de anacardato de cálcio associado a níveis de ácido cítrico, sendo ração com 0,25% de Anacardato de Cálcio (AnCa) + 0,25% de Ácido cítrico (AC); ração com 0,50% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,50% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,75% AC.

Para obtenção das rações experimentais, em cada fase de criação, formulou-se a ração controle negativo (Tabela 10), considerando os valores nutricionais e energéticos dos ingredientes e as exigências nutricionais propostas por Rostagno *et al.* (2017), usando na sua composição a inclusão 1,50% de um ingrediente inerte. As rações dos demais tratamentos foram obtidas pela substituição do inerte pelo promotor de crescimento ou do anacardato de cálcio e ácido cítrico, na proporção de cada tratamento.

Nas rações com promotor de crescimento foram adicionados: 33 g de Stafac 500 (50% Virginiamicina) + 500 g de Coxistac (12% de Salinomicina) por tonelada de ração.

O programa de alimentação foi dividido em quatro fases, a fase pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e a final (36 a 42 dias). O programa de luz adotado foi de 24h de luz de 1 a 7 dias e 23h de luz de 8 a 42 dias.

Tabela 10- Composições, níveis nutricionais e energéticos calculados das rações experimentais controle negativo para frangos de corte

Ingredientes	Fases (idade em dias)			
	1 a 7	8 a 21	22 a 35	36 a 42
Milho	48,20	50,03	58,62	65,55
Farelo de soja (45% PB)	42,60	40,03	32,71	26,94
Óleo de soja	3,33	4,41	3,45	2,78
Fosfato bicálcico (25% Ca, 19% P)	1,92	1,70	1,52	1,15
Calcário calcítico (37,7% Ca)	1,15	1,04	0,88	0,79
Sal comum	0,53	0,52	0,49	0,47
DL-metionina (99%)	0,32	0,31	0,27	0,23
L-lisina (54,6%)	0,20	0,21	0,30	0,34
L-treonina (98,5%)	0,05	0,05	0,06	0,05
Suplemento vitamínico ¹	0,15	0,15	0,15	0,15
Suplemento mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05
Inerte ³	1,50	1,50	1,50	1,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível energético e nutricional calculado				
Energia metabolizável (kcal/kg)	2975,00	3050,00	3100,00	3150,00
Proteína bruta (%)	24,00	23,00	20,50	18,50
Lisina digestível aves (%)	1,29	1,24	1,12	1,01
Metionina + cistina digestível (%)	0,96	0,92	0,83	0,75
Metionina digestível (%)	0,64	0,61	0,55	0,49
Treonina digestível (%)	0,85	0,82	0,74	0,67
Triptofano digestível (%)	0,27	0,26	0,22	0,19
Valina digestível (%)	1,00	0,96	0,85	0,76
Cálcio (%)	0,97	0,88	0,76	0,63
Fósforo disponível (%)	0,46	0,42	0,37	0,30
Sódio (%)	0,23	0,22	0,21	0,20
Cloro (%)	0,38	0,37	0,36	0,35
Potássio (%)	0,93	0,89	0,79	0,70

¹ Composição por kg do produto: Vit. A 9.000.000,00 UI; Vit. D3 2.500.000,00 UI; Vit. E 20.000,00 UI; Vit. K3 2.500,00 mg; Vit. B1 2.000,00 mg; Vit. B2 6.000,00 mg; Vit. B6 3.000,38 mg; Vit. B12 15,00 mg; Ácido fólico 1.500,00 mg; ácido nicotínico 35000 mg; Ácido pantotênico 12.000,00 mg; Biotina 100mg; Selênio 250,00 mg. ² Composição por kg do produto: Ferro 100.000,00 mg; cobre 20.000,00 mg; Manganês 130.000,00 mg; Zinco 130.000,10 mg; Iodo 2.000,00 mg.

Durante o período experimental, os dados de temperatura e umidade relativa do ar foram registrados por dois *dataloggers* instalados na altura das aves. As médias de temperatura ambiente e umidade relativa no galpão durante o experimento foram 29,22°C e 62,19 %, respectivamente.

Aos 42 dias de idade, um frango de cada unidade experimental foi selecionado, com base no peso médio da parcela, submetido a jejum alimentar de 6h, e então eutanasiado por

meio de eletronarçose seguida de sangria, depena e evisceração. Na sequência, todo o peito maior foi retirado, dividido ao meio e desossado, sendo cada metade embalada em um saco plástico devidamente identificado e mantidas sobre refrigeração. A metade esquerda do peito foi utilizada para mesurar os parâmetros de qualidade da carne. A metade direita do peito foi dividida em duas partes sendo uma parte utilizada para análise *in natura* da concentração de compostos fenólicos, capacidade e atividade antioxidante e estabilidade lipídica da carne, sendo a outra parte congelada em nitrogênio líquido e mantido a -20°C por 60 dias de armazenamento, para posterior análise da estabilidade lipídica.

4.2.3 Parâmetros de qualidade da carne

A avaliação dos parâmetros de qualidade de carne foi realizada 24 horas após o abate, no Laboratório de Tecnologia de Carnes do Departamento de Engenharia de Alimentos da UFC, onde foram mensurados o pH, perda por gotejamento, perda por cocção e coloração da carne.

O pH foi medido 24 horas *post-mortem* através de um pHmetro de faca previamente calibrado (HI-99,163, Hanna Instruments, Woonsocket, Rhode Island, EUA), sendo realizadas três medidas no centro do músculo Pectoralis major e o valor de pH considerando o obtido da média das mensurações (ALLEN *et al.*, 1997).

A perda por gotejamento foi determinada conforme metodologia descrita por Wang *et al.* (2017). Aproximadamente 20 g de carne do peito maior foi pesada, e suspensa em copo descartável com auxílio de uma malha de frutas a 4°C , e após 24 h foram pesados novamente para calcular a perda por gotejamento em porcentual.

As perdas de peso por cocção foram determinadas através de uma amostra de carne, previamente pesada e depois embalada a vácuo e cozida em banho-maria por 25 minutos a 85°C . Depois de resfriada, atingindo temperatura ambiente, a amostra foi seca em papel toalha e pesada. As perdas de peso por cocção foram determinadas pela relação entre o peso da carne cozida e o peso da carne fresca de acordo com a metodologia de Wattanachant *et al.* (2004).

A medição objetiva da cor carne foi realizada mediante colorímetro (Minolta CR300, Tokyo, Japan) operando no sistema CIE (L^* , a^* e b^*), com L^* sendo a luminosidade, variando de 0 (preto) para 100 (branco); a^* a intensidade da cor vermelha, variando de verde (-60) a vermelho (+60); e b^* a intensidade da cor amarela, variando do azul (-60) a amarelo (+60). A calibração do aparelho foi realizada por meio de placa de cerâmica branca, utilizando-se o iluminante D65.

4.2.4 Compostos fenólicos, potencial e atividade antioxidante e estabilidade lipídica da carne

Foi preparado o extrato da carne para determinação de compostos fenólicos, atividade antioxidante (ABTS) e capacidade Antioxidante (DPPH). Assim, 2,5g de amostra de carne foi homogeneizado em 7,5mL de água destilada em tubo Falcon de 15mL, depois centrifugado a 1500 g por 2 minutos. Em seguida, foi adicionado 4,5 ml de clorofórmio e o sobrenadante foi utilizado para as análises. A análise dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com Johnson *et al.* (2008) e Genovese *et al.* (2008) com adaptações.

Em um Eppendorf de 2,0 ml foi adicionado 150 µl do extrato da carne, em seguida foi adicionado 750 µl de Folin-ciocautau e após 3 minutos foi adicionado 600 µl de carbonato de sódio. Em seguida, as amostras foram incubadas a 45°C por 15 minutos no ThermoMixer. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 765 nm. A quantificação foi feita com base na curva padrão gerada com ácido gálico e o resultado expresso em equivalentes de ácido gálico mgEAG/100g de amostra.

A análise de ABTS da carne foi realizada de acordo com Re *et al.* (1999). Em um Eppendorf de 1,5 ml, foi adicionado 10 µl do extrato da carne, em seguida, foi adicionado 1 ml da solução diluída de ABTS. Foi realizada incubação a 30°C por 6 minutos no ThermoMixer. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 734 nm. A inibição do radical ABTS foi calculada como a percentagem relativa de absorbância da amostra comparada com o branco usando a seguinte equação: $ABTS (\%) = \left[\frac{\text{absorbância do controle} - \text{absorbância da amostra}}{\text{absorbância do controle}} \right] \times 100$.

A capacidade antioxidante foi realizada de acordo com Arabshahi-Delouee e Urooj (2007) com adaptações. Em um Eppendorf de 1,5 ml, foi adicionado 100 µl do extrato da carne e adicionado 500 µl da solução metanólica do radical DPPH, homogeneizado e incubado no escuro por 30 minutos. A leitura foi feita no espectrofotômetro a 517 nm. A inibição do radical DPPH foi calculada como a percentagem relativa de absorbância da amostra comparada com um branco usando a seguinte equação: $DPPH (\%) = \left[\frac{\text{absorbância do controle} - \text{absorbância da amostra}}{\text{absorbância do controle}} \right] \times 100$.

Para determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), utilizou-se o método de extração ácido aquosa com adaptações (CHERIAN *et al.*, 2002). Assim, em um tubo de 15ml, foram pesados 2g de carne de peito triturado. Em seguida, foram adicionados 6,75 mL de ácido perclórico (3,86%) e 18,75µL de BHT (4,5%) sendo o conteúdo homogeneizado em vórtex por 30 segundos. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a

8500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro Whatman nº 1. Depois, 1 mL do filtrado foi colocado em tubo eppendorf, adicionando-se em seguida 1 mL de solução aquosa 20 mM de TBA. Os tubos foram incubados (Thermo Mixer) por 30 minutos a 95°C sem agitação. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 531 nm. A concentração de TBARS foi calculada através de uma curva padrão de malondialdeído (MDA) e os resultados expressos em µg de MDA por g da amostra.

4.2.5 Análise estatística

Para análise estatística dos dados, foi utilizado o software “Statistical Analyses System” (SAS, 2000). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento ANOVA. A comparação das médias foi realizada pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Parâmetros de qualidade da carne

Conforme os resultados dos parâmetros de qualidade da carne (Tabela 11) não houve diferença significativa entre os tratamentos para nenhuma das variáveis avaliadas.

Os resultados obtidos para os indicadores de qualidade da carne dos frangos de corte indicam que a adição do anacardato de cálcio em associação com o ácido cítrico não promoveu nenhuma alteração do pH, perda por gotejamento e coloração da carne. Esses resultados estão de acordo com as observações relatadas por Freitas *et al.* (2022) de que a adição de até 1% de anacardato de cálcio na ração dos frangos de corte não influenciou a qualidade e cor da carne do peito.

Variações nos efeitos de aditivos como fitogênicos e ácidos orgânicos sobre a qualidade da carne podem estar relacionadas a vários fatores como nível de ingestão do aditivo, composição da dieta basal, desafio sanitário, ambiente, manejo e diferenças na idade das aves (BRENES; ROURA, 2010; HASHEMIPOUR *et al.*, 2013; SCICUTELLA *et al.*, 2021; FREITAS *et al.*, 2022). Assim como observado nas pesquisas com anacardato de cálcio na alimentação frangos, Jonathan *et al.* (2021), ao avaliar o resíduo do processamento da uva como fonte de compostos fenólicos na ração, e Rossi *et al.* (2022), avaliando a suplementação dietética de mistura de polissacarídeos com compostos fenólicos (Beta-caroteno e ácidos elágico, clorogênico, rosmárico, sirínico, sinápinico, rutina e quercetina) não observaram efeito significativo dos tratamentos sobre pH, as perdas por gotejamento e cocção e os parâmetros de coloração (L*, a*, b*) na carne dos frangos.

Por outro lado, pesquisas avaliaram outros aditivos fitogênicos na alimentação de frangos de corte que obtiveram efeitos significativos sobre alguns parâmetros de qualidade da carne como redução na perda por gotejamento com uso de flavonoides obtidos da alfafa (OUYANG *et al.*, 2016); elevação do parâmetro de cor L* (luminosidade) na carne com adição de 200mg/kg de produto composto por diferentes polifenóis (quercetina e flavonóis oriundo da cebola e catequinas, flavonóis, procianidinas e antocianidinas oriundas das sementes de uva) em ração contendo óleo de canola oxidado Mazur-Kusnerek *et al.* (2019); e aumento do pH após 24 horas, redução nas perdas por gotejamento e cocção, diminuição da luminosidade (L*) e aumento da intensidade do vermelho (a*) na carne de frangos tratados com inclusão dietética de extrato rico em ácido clorogênico obtido das folhas da *Eucommia ulmoides*, na dose de 1000 mg/kg (ZHAO *et al.*, 2019).

Tabela 11- Qualidade de carne de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	pH24h	Perdas (%)		Parâmetros de coloração		
		Gotejamento	Cocção	L*	a*	b*
Controle negativo	5,92	1,73	28,62	60,67	11,67	11,90
Controle positivo	6,00	1,92	31,20	61,30	12,30	11,48
0,25% AnCa ¹ + 0,25% AC ²	6,02	1,77	30,12	62,95	11,15	10,93
0,50% AnCa + 0,25% AC	6,02	1,70	30,27	59,70	11,72	10,67
0,50% AnCa + 0,50% AC	6,04	1,78	29,04	60,42	12,34	10,34
0,75% AnCa + 0,25% AC	6,00	1,73	31,97	58,32	13,30	9,65
0,75% AnCa + 0,50% AC	5,95	1,95	30,62	59,15	12,30	10,08
0,75% AnCa + 0,75% AC	6,00	1,83	30,90	62,08	12,58	10,57
EPM ³	0,015	0,071	0,628	0,493	0,249	0,284
ANOVA ⁴ (<i>p</i> -valor)	0,5665	0,9874	0,9298	0,2867	0,5437	0,5789

¹ Anacardato de cálcio; ² Ácido cítrico; ³ Erro padrão da média; ⁴ Análise de variância.

4.3.2 Compostos fenólicos, potencial e atividade antioxidante e estabilidade lipídica da carne

Os resultados para concentração dos compostos fenólicos na carne (Tabela 12) indicaram que as aves alimentadas com ração controle negativo apresentaram menor concentração, diferindo significativamente dos valores determinados na carne das aves alimentadas com ração controle positivo e as diferentes combinações de AnCa + AC. Para a carne das aves alimentadas com rações controle positivo, a concentração de compostos fenólicos na carne foi significativamente menor em relação aos resultados obtidos com a adição de 0,75% AnCa + 0,25% AC, 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC.

O potencial antioxidante avaliado na carne pelo percentual de captura do radical livre DPPH (Tabela 12) não diferiu significativamente entre as aves alimentadas com rações controle negativo ou com rações controle positivo. Por sua vez, a carne das aves alimentadas com as diferentes combinações de AnCa + AC apresentaram maior potencial antioxidante em comparação a das aves alimentadas com a ração controle negativo, contudo, em relação às alimentadas com rações controle positivo, embora o potencial antioxidante tenha aumentado com a adição de AnCa + AC, a diferença só se mostrou significativa a partir da inclusão de 0,50% AnCa + 0,25% AC. E entre as diferentes combinações de AnCa + AC, observou-se que o potencial antioxidante nas amostras de carne dos frangos que consumiram ração com 0,25% AnCa + 0,25% AC foi semelhante ao obtido para a combinação 0,50% AnCa + 0,25% AC e significativamente menor em relação aos determinados com as demais combinações. Todavia,

não houve diferença significativa entre o potencial antioxidante da carne das aves alimentadas com as combinações AnCa + AC a partir do nível 0,50% AnCa + 0,25% AC.

A atividade antioxidante total avaliada pelo percentual de captura do radical ABTS (Tabela 12) não diferiu significativamente entre as aves alimentadas com rações controle negativo ou controle positivo. Por sua vez, a carne das aves alimentadas com as diferentes combinações de AnCa + AC apresentaram maior atividade antioxidante em relação a das aves alimentadas com as rações controle negativo ou controle positivo, contudo, a diferença passou a ser significativa a partir da inclusão de 0,50% AnCa + 0,50% AC. Entre as diferentes combinações de AnCa + AC, observou-se que a atividade antioxidante foi aumentando com o aumento das doses da combinação, porém, houve diferença significativa apenas entre os resultados obtidos para os frangos que consumiram ração com 0,25% AnCa + 0,25% AC em relação aos obtidos com as combinações 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,7% AC, com menor atividade para a combinação 0,25% AnCa + 0,25% AC.

Tabela 12- Compostos fenólicos, capacidade e atividade antioxidante e oxidação lipídica da carne de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	Compostos fenólicos (mgEAG/100g de carne)	DPPH ¹ (%)	ABTS ² (%)	TBARS ¹ (mg de MDA/kg de carne)	
				Fresca	Armazenada
Controle negativo	0,54c	38,27d	54,63c	0,44a	1,43a
Controle positivo	0,58b	41,2cd	55,25c	0,36b	1,26b
0,25% AnCa ¹ + 0,25% AC ²	0,59ab	43,39bc	57,07bc	0,32bc	1,19bc
0,50% AnCa + 0,25% AC	0,62ab	46,36ab	61,97abc	0,32bc	1,10bc
0,50% AnCa + 0,50% AC	0,62ab	47,38a	64,4ab	0,29c	1,05c
0,75% AnCa + 0,25% AC	0,63a	48,17a	65,38ab	0,28c	0,97c
0,75% AnCa + 0,50% AC	0,64a	48,48a	66,65a	0,26c	0,99c
0,75% AnCa + 0,75% AC	0,64a	49,01a	67,21a	0,28c	1,04c
EPM ³	0,006	0,636	1,033	0,009	0,027
ANOVA ⁴ (<i>p</i> -valor)	0,0001	0,0001	0,0003	0,0001	0,0001

¹ Radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil; ² Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; ³ Radical 2,2'- azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); ¹ Anacardato de cálcio; ² Ácido cítrico; ³ Erro padrão da média; ⁴ Análise de variância; ^{a,b} Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste SNK (5%).

Os resultados de avaliação da oxidação lipídica na carne (Tabela 12), medida pelos valores de TBARS mostrou respostas com padrão semelhante para amostras *in natura* e armazenadas sob congelamento por 60 dias. Conforme os resultados, as aves alimentadas com ração controle negativo apresentaram maior oxidação lipídica, diferindo significativamente dos valores determinados para aves alimentadas com ração controle positivo e as diferentes

combinações de AnCa + AC. As aves alimentadas com ração controle positivo apresentaram maior oxidação lipídica da carne em relação às alimentadas com AnCa + AC, contudo, diferiu significativamente apenas em relação aos resultados obtidos com a adição de 0,75% AnCa + 0,25% AC, 0,75% AnCa + 0,50% AC e 0,75% AnCa + 0,75% AC. Para os diferentes níveis das combinações AnCa + AC, não foram observadas diferenças significativas.

Conforme os resultados apresentados por Mahfuz *et al.* (2021), pode-se inferir que os aditivos fitogênicos ricos em compostos fenólicos têm ganhado atenção para uso na alimentação de frangos de corte, pois em função das moléculas bioativas que estão em sua composição pode ocorrer transferência destas para a carne, contribuindo para melhoria de sua qualidade. Assim, frequentemente tem sido relatado aumento na concentração de compostos fenólicos totais na carne com o uso de aditivos contendo compostos fenólicos na alimentação dos frangos. Por sua vez, esse efeito contribui para maior potencial antioxidante e maior estabilidade lipídica da carne.

Nesse contexto, os resultados obtidos para as diferentes combinações de AnCa + AC estão de acordo com os relatos da literatura para o uso de extratos vegetais ricos em compostos fenólicos. Jang *et al.* (2008) verificaram que extratos de ervas medicinais na alimentação promoveu aumento dos compostos fenólicos e maior potencial antioxidante (DPPH) e atividade antioxidante (ABTS) na carne dos frangos. Farias *et al.* (2020) relataram que a adição de extrato etanólico do caroço da manga aumentou a atividade antioxidante (ABTS) da carne dos frangos. Redução na oxidação lipídica na carne foi relatada quando os frangos foram alimentados com rações contendo diferentes fontes de compostos fenólicos como o extrato etanólico do caroço e da casca da manga (FREITAS *et al.*, 2015), pó de folhas de *Pinus brutia* (RAMAY; YALÇIN, 2019), extrato da folha de *Eucommia ulmoides* (ZHAO *et al.*, 2019) extrato de epicarpo e endocarpo de juçara *Euterpe edulis* (FRASAO *et al.*, 2021). Avaliando o efeito das doses (0,25 a 1,00 %) de anacardato de cálcio na alimentação dos frangos de corte, Freitas *et al.* (2022) relataram que a ação antioxidante dos ácidos anacárdicos promoveu redução linear na oxidação lipídica da carne do peito dos frangos à medida que se aumentou os níveis de anacardato, de modo que a inclusão de 0,75% de anacardato já foi suficiente para reduzir a oxidação lipídica da carne.

4.4 Conclusão

A adição de até a maior dose testada, 0,75% de anacardato de cálcio associado a 0,75% ácido cítrico na alimentação dos frangos de corte não altera o pH, as perdas por gotejamento e cocção e a coloração da carne, contudo aumenta a concentração de compostos fenólicos, a atividade e capacidade antioxidante e reduz a oxidação lipídica da carne.

A adição da associação de 0,50% anacardato de cálcio com 0,50% ácido cítrico se mostrou suficiente para obtenção dos benefícios de melhoria na concentração de compostos fenólicos, atividade e capacidade antioxidante da carne *in natura* e redução na oxidação lipídica da carne *in natura* e armazenada.

5 PARÂMETROS ÓSSEOS E INCIDÊNCIA DA SÍNDROME DO OSSO NEGRO EM FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM ANACARDATO DE CÁLCIO E ÁCIDO CÍTRICO

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar os efeitos da adição de diferentes combinações de anacardato de cálcio com ácido cítrico na ração de frangos de corte sobre os parâmetros ósseos e a incidência da síndrome do osso negro. Para isso, 768 pintos machos da linhagem Ross com 1 dia de idade foram distribuídos ao acaso em oito tratamentos, sendo seis repetições de 16 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por: ração controle negativo; ração controle positivo; ração com 0,25% AnCa (Anacardato de cálcio) + 0,25% AC (Ácido cítrico); ração com 0,50% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,50% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,75% AC. Conforme os resultados, não houve diferença significativa entre os tratamentos para os parâmetros peso, comprimento, densidade óssea, resistência, deformidade, matéria seca e cinzas determinados no fêmur dos frangos, indicando que as diferentes combinações de anacardato de cálcio e ácido cítrico avaliadas não proporcionaram alterações no crescimento e qualidade óssea dos frangos. Quanto à incidência da síndrome do osso negro, também não houve diferença significativa entre os tratamentos, embora, a combinação de 0,50% AnCa + 0,25% AC tenha proporcionado maior percentual (50%) de amostras com escore aceitável em relação às aves alimentadas com rações controle negativo (16%). A adição de até 0,75% de anacardato de cálcio em associação com 0,75% de ácido cítrico na ração de frangos de corte não altera o crescimento e qualidade óssea e a incidência da síndrome do osso negro.

Palavras-chave: antioxidante, ácido anacárdico, ácido orgânico, composto fenólico, escurecimento da carne, qualidade óssea.

BONE PARAMETERS AND INCIDENCE OF BLACK BONE SYNDROME IN BROILER CHICKENS FED WITH CALCIUM ANACARDATE AND CITRIC ACID

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effects of adding different combinations of calcium anacardate with citric acid to broiler chicken feed on bone parameters and the incidence of black bone syndrome. For this, 768 male Ross lineage chicks with 1 day of age were randomly distributed in eight treatments, with six replicates of 16 birds per experimental unit. The treatments consisted of rations, which were: negative control ration; positive control ration; feed with 0.25% AnCa (Calcium anacardate) + 0.25% AC (Citric acid); feed with 0.50% AnCa + 0.25% AC; feed with 0.50% AnCa + 0.50% AC; feed with 0.75% AnCa + 0.25% AC; feed with 0.75% AnCa + 0.50% AC; feed with 0.75% AnCa + 0.75% AC. According to the results, there was no significant difference between the treatments for the parameters weight, length, bone density, resistance, deformity, dry matter and ash determined in the femur of chickens, indicating that the different combinations of calcium anacardate and citric acid evaluated did not provide positive or negative changes in the growth and bone quality of chickens. As for the incidence of black bone syndrome, there was also no significant difference between the treatments, although the combination of 0.50% AnCa + 0.25% AC provided a higher percentage (50%) of samples with an acceptable score compared to the birds fed negative control diets (16%). The addition of up to 0.75% calcium anacardate in association with 0.75% citric acid in broiler chicken feed does not change growth and bone quality and the incidence of black bone syndrome.

Keywords: antioxidant, anacardic acid, organic acid, phenolic compound, black bone, bone quality.

5.1 Introdução

O osso é um tecido dinâmico influenciado por fatores fisiológicos, nutricionais e físicos (RATH *et al.*, 2000). Paralelamente a alta eficiência na produção de frangos de corte foram surgindo alguns distúrbios fisiológicos relacionados à estrutura óssea.

Nos últimos anos, tem aumentado a preocupação com a incidência da síndrome do osso negro, que é caracterizada pela coloração escura do osso e da carne em seu entorno após o cozimento. Esse problema pode levar a menor aceitação pelo consumidor e seu aparecimento está associado ao extravasamento de sangue da medula óssea na região próxima do osso da tíbia ou fêmur em razão de problemas na qualidade óssea, com maior frequência em cortes submetidos ao congelamento (SMITH; NORTH CUTT, 2004; BALDO *et al.*, 2013).

O estresse oxidativo tem sido relatado como importante fator predisponente para o estado patológico de muitos problemas ósseos (ALTINDAG *et al.*, 2008; WAUQUIER *et al.*, 2009; SAVASKY *et al.*, 2018), o que pode favorecer a incidência da síndrome do osso negro.

Nesse contexto, alguns compostos naturais com atividade antioxidante estão sendo testados na alimentação de frangos de corte visando a melhoria da qualidade óssea e, conseqüentemente, controlar ou reduzir a incidência de síndrome do osso negro. O ácido anacárdico, é um composto fenólico que naturalmente pode ser encontrado em maior proporção no líquido da castanha de caju, fruto da planta *Anacardium occidentale*, que apresenta várias atividades biológicas, com destaque para sua atividade antioxidante. O uso de diferentes fontes de ácido anacárdico, líquido da castanha de caju ou anacardato de cálcio, tem se mostrado promissor na prevenção dos danos oxidativos no organismo das aves poedeiras e frangos de corte, bem como nos seus produtos, carne e ovos (BRAZ *et al.*, 2017; BRAZ *et al.*, 2019; FREITAS *et al.*, 2022).

Também tem sido relatado efeito do ácido anacárdico reduzindo as perdas ósseas induzidas em ratos (ZHAO *et al.*, 2019; VENUGOPAL *et al.*, 2021) e, também, reduzindo os efeitos da indução da discondroplasia tibial em frangos de corte (JIANG *et al.*, 2019). Assim, a adição do anacardato de cálcio como fonte de ácido anacárdico poderia contribuir para melhoria da qualidade óssea dos frangos de corte. Todavia Cruz *et al.* (2019) relataram a ausência de influência significativa do uso do anacardato de cálcio até o nível de 1% na ração sobre os parâmetros ósseos medidos no fêmur de frangos de corte. Segundo os pesquisadores, a ausência de influência significativa poderia estar relacionada ao potencial de dissociação no trato digestório dos frangos, uma vez que um pH mais ácido seria requerido para maior dissociação

e, no entanto, o pH se manteve em níveis normais nos diferentes seguimentos do trato digestório dos frangos.

Dessa forma, o ácido cítrico pode ser uma alternativa para acidificar o conteúdo digestivo no trato gastrointestinal e favorecer a dissociação do ácido anacárdico presente no anacardato de cálcio (FERREIRA *et al.*, 2020). Além disso, o aumento na digestibilidade dos minerais e maior mineralização e resistência óssea com a adição de ácido cítrico na ração de frangos (ISLAM *et al.*, 2012) poderiam se somar, beneficiando as características ósseas dos frangos.

Diante do exposto, esta pesquisa teve por objetivo avaliar os efeitos da adição de diferentes combinações de anacardato de cálcio com ácido cítrico na ração de frangos de corte sobre os parâmetros ósseos e a incidência da síndrome do osso negro.

5.2 Material e métodos

Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob o protocolo N° 4438250719, e estão de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

5.2.1 Produção do anacardato de cálcio

Os procedimentos de extração do líquido da casca da castanha de caju e produção do anacardato de cálcio foram realizados no laboratório de extração (LAEX), localizado no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC).

As cascas da castanha de caju foram adquiridas de empresa que realiza o beneficiamento da castanha para extração da amêndoa, localizada no município de Pacajus, Ceará, Brasil. Nas instalações do LAEX, inicialmente as cascas da castanha foram trituradas em picador forrageiro (GTI-2000 LDF) e, em seguida, acondicionadas em recipientes de vidro, onde permaneceram imersas em etanol 99,5 °GL, na proporção de 1:1, durante sete dias, em temperatura ambiente. Após este período a mistura foi filtrada com o auxílio de um tecido (TNT) de 0,5mm, obtendo o líquido da castanha de caju (LCC) mais etanol. Após esse procedimento foi adicionado mais álcool no mesmo material até ficar imerso novamente por mais 7 dias, e posteriormente foi realizado o mesmo procedimento para retirada do LCC mais etanol.

O LCC obtido na primeira e na segunda filtração foi homogeneizado e a quantidade média de etanol e LCC na mistura foi determinada, submetendo-se três amostras da mistura à evaporação em evaporador rotativo (Evaporador Rotativo TE – 210®, Tecnal, Piracicaba, Brasil), a 50°C, rotação de 60 rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente (etanol) e obtenção do LCC. As concentrações obtidas na solução foram de 25,5% de LCC e 74,5% de etanol.

O anacardato de cálcio foi obtido segundo metodologia apresentada por Paramashivappa *et al.* (2001), com adaptações propostas por Trevisan *et al.* (2006), em que a partir da reação dos ácidos anacárdicos presente no LCC com hidróxido de cálcio, forma-se um sal de cálcio que se precipita da mistura e pode ser separado. Para isso, em um béquer com capacidade de 4L foram adicionados 2.157mL da solução de LCC+ etanol (550mL de LCC e 1.607mL de etanol), 150 mL de água destilada e 250g de hidróxido de cálcio dissolvidos em

1.243mL de etanol. Essa mistura foi aquecida com agitação (Agitador Magnético com Aquecimento – Q261-22, Quimis, Diadema, Brasil), até atingir a temperatura de 50°C, permanecendo nessa condição por 4h. Ao final do período, a mistura foi deixada em descanso para a decantação por 1 hora. Em seguida, o sobrenadante foi retirado e adicionado 800 mL de etanol à massa decantada que foi submetida a uma nova agitação e aquecimento por mais 1 hora. Novamente a mistura foi deixada para decantação por igual período e foi retirado o sobrenadante. O material precipitado foi retirado e filtrado com o auxílio de um tecido (TNT) de 0,5mm, para a separação do anacardato de cálcio e dos resíduos do sobrenadante que ainda estavam misturados ao precipitado. O anacardato de cálcio, retido no TNT, foi encaminhado para secagem em estufa de ventilação forçada (Estufa de secagem - MA035/5/10P, Marconi, Piracicaba, Brasil) a 55°C por 72 horas, e então triturado.

A análise de quantificação dos ácidos anacárdicos no anacardato de cálcio foram realizadas no laboratório de produtos naturais do Departamento de Química da UFC. Para esta análise, a amostra de anacardato de cálcio foi convertida em ácidos anacárdicos conforme procedimento descrito por Paramashivappa et al. (2001), em que uma alíquota de 1,1 gramas de anacardato de cálcio foi transferida para um Erlenmeyer com 3 mL acetato de etila, 8,8 mL água e 1,2 mL de HCl P.A, submetido à mistura sob vigorosa agitação durante 1 h e posteriormente filtrada em funil de Büchner. O filtrado foi transferido para um funil de separação, onde foi realizada uma partição líquida - líquido com acetato de etila (2x 3 mL), obtendo uma fase orgânica rica em ácidos anacárdicos, que foi posteriormente lavada com água Mili – Q (200 mL) e seca com sulfato de sódio anidro.

O extrato foi submetido à rotaevaporação para eliminação do solvente e obtenção de uma fração contendo apenas os ácidos anacárdicos que foi quantificada por meio de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) com detector DAD (Diode Array Detector) da marca Agilent operando na faixa ultravioleta com coluna analítica C-18 Latek (5 µm, 250 x 4 mm) em uma corrente de mL.min⁻¹ com volume de injeção de 10µL. O detector DAD foi ajustado nos comprimentos de onda de 254, 278, 325 e 340 nm, onde os ácidos anacárdicos têm picos de absorção mais elevados em UV-VIS. A quantidade de ácidos anacárdicos presentes no anacardato de cálcio foi de 66,65%.

5.2.2 localização, delineamento, tratamentos e manejo das aves

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da UFC em um galpão com dimensões de 15 m x 10 m, provido de 48 boxes de 1,0 x 1,5 m com o piso coberto com maravalha e equipados com comedouros tubular e bebedouro pendular.

Foram utilizados 768 pintos machos de frangos de corte da linhagem Ross 308 AP95 com 1 dia de idade, vacinados no incubatório contra a doença de Marek e Gumboro. Aos 7 dias os pintos foram vacinados contra a doença de Newcastle. No galpão experimental as aves foram pesadas ($36,78 \text{ g} \pm 0,57$) e distribuídas para que todas as parcelas tivessem pesos semelhantes, conforme recomendações de (Sakomura e Rostagno 2016), segundo um delineamento experimental inteiramente casualizado com oito tratamentos e seis repetições de 16 aves por unidade experimental, totalizando 96 aves por tratamento.

Os tratamentos foram constituídos por: ração controle negativo (sem promotor de crescimento e sem anticoccidiano); ração controle positivo (com promotor de crescimento e anticoccidiano); rações com níveis de anacardato de cálcio associado a níveis de ácido cítrico, sendo ração com 0,25% de Anacardato de Cálcio (AnCa) + 0,25% de Ácido cítrico (AC); ração com 0,50% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,50% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,25% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,50% AC; ração com 0,75% AnCa + 0,75% AC.

Para obtenção das rações experimentais, em cada fase de criação, formulou-se a ração controle negativo (Tabela 13), considerando os valores nutricionais e energéticos dos ingredientes e as exigências nutricionais propostas por Rostagno *et al.* (2017), usando na sua composição a inclusão 1,25% de um ingrediente inerte. As rações dos demais tratamentos foram obtidas pela substituição do inerte de acordo pelo promotor de crescimento ou do anacardato de cálcio e ácido cítrico, na proporção de cada tratamento.

Nas rações com promotor de crescimento foram adicionados: 500 g de Coxistac (12% de Salinomicina) + 33 g de Stafac 500 (50% Virginiamicina) por tonelada de ração. O programa de alimentação foi dividido em quatro fases, a fase pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e a final (36 a 42 dias). O programa de luz adotado foi de 24h de luz de 1 a 7 dias e 23h de luz de 8 a 42 dias.

Durante o período experimental, os dados de temperatura e umidade relativa do ar foram registrados por dois *dataloggers* instalados na altura das aves. As médias de temperatura ambiente e umidade relativa no galpão durante o experimento foram $29,22^{\circ}\text{C}$ e 62,19 %, respectivamente.

Para avaliação dos parâmetros de crescimento e qualidade óssea e a incidência da síndrome do osso negro, aos 42 dias de idade, um frango de cada unidade experimental foi selecionado, com base no peso médio da parcela, submetido a jejum alimentar de 6h, e então

eutanasiado por meio de eletronarcolese seguida de sangria, depena e evisceração. Posteriormente, procedeu-se a retirada das duas sobrecoxas, que devidamente identificadas foram armazenadas em freezer a -20°C, durante 30 dias, quando foram retiradas do freezer e descongeladas em geladeira a 4°C por 12 horas para realização das análises.

Tabela 13-, Níveis nutricionais e energéticos calculados das rações experimentais controle negativo para frangos de corte

Ingredientes	Fases (idade em dias)			
	1 a 7	8 a 21	22 a 35	36 a 42
Milho	48,20	50,03	58,62	65,55
Farelo de soja (45% PB)	42,60	40,03	32,71	26,94
Óleo de soja	3,33	4,41	3,45	2,78
Fosfato bicálcico (25% Ca, 19% P)	1,92	1,70	1,52	1,15
Calcário calcítico (37,7% Ca)	1,15	1,04	0,88	0,79
Sal comum	0,53	0,52	0,49	0,47
DL-metionina (99%)	0,32	0,31	0,27	0,23
L-lisina (54,6%)	0,20	0,21	0,30	0,34
L-treonina (98,5%)	0,05	0,05	0,06	0,05
Suplemento vitamínico ¹	0,15	0,15	0,15	0,15
Suplemento mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05
Inerte ³	1,50	1,50	1,50	1,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível energético e nutricional calculado				
Energia metabolizável (kcal/kg)	2975,00	3050,00	3100,00	3150,00
Proteína bruta (%)	24,00	23,00	20,50	18,50
Lisina digestível aves (%)	1,29	1,24	1,12	1,01
Metionina + cistina digestível (%)	0,96	0,92	0,83	0,75
Metionina digestível (%)	0,64	0,61	0,55	0,49
Treonina digestível (%)	0,85	0,82	0,74	0,67
Triptofano digestível (%)	0,27	0,26	0,22	0,19
Valina digestível (%)	1,00	0,96	0,85	0,76
Cálcio (%)	0,97	0,88	0,76	0,63
Fósforo disponível (%)	0,46	0,42	0,37	0,30
Sódio (%)	0,23	0,22	0,21	0,20
Cloro (%)	0,38	0,37	0,36	0,35
Potássio (%)	0,93	0,89	0,79	0,70

¹ Composição por Kg do produto: Vit. A 9.000.000,00 UI; Vit. D3 2.500.000,00 UI; Vit. E 20.000,00 UI; Vit. K3 2.500,00 mg; Vit. B1 2.000,00 mg; Vit. B2 6.000,00 mg; Vit. B6 3.000,38 mg; Vit. B12 15,00 mg; Ácido fólico 1.500,00 mg; ácido nicotínico 35000 mg; Ácido pantotênico 12.000,00 mg; Biotina 100mg; Selênio 250,00 mg. ² Composição por Kg do produto: Ferro 100.000,00 mg; cobre 20.000,00 mg; Manganês 130.000,00 mg; Zinco 130.000,10 mg; Iodo 2.000,00 mg.

5.2.3 Parâmetros de crescimento e qualidade óssea

Para medição dos parâmetros ósseos, o fêmur direito de cada ave foi devidamente limpo do tecido muscular, com uso de bisturi, conforme à metodologia descrita e adaptada do estudo por Bruno *et al.* (2000). O comprimento do fêmur foi medido usando paquímetros digitais e o peso determinado em balança de precisão (0,01 g). A densidade óssea foi avaliada por meio da divisão do peso (mg) pelo comprimento (mm) do osso (MELO *et al.*, 2020).

Os parâmetros de resistência e deformidade óssea do fêmur foram determinados usando uma Prensa Mecânica Testo/Ronald Triaxial (Ronald Top Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil) com capacidade para 150 kg. Os ossos foram colocados em posição horizontal sobre um suporte de madeira e depois foi aplicada uma força no centro de cada osso. A quantidade máxima de força aplicada no osso até a sua ruptura foi considerada a resistência à quebra (kgf/cm^2), sendo esta mensurada através de um extensômetro digital. A deformidade do osso (mm) foi medida registrando-se, em extensômetro analógico, a flexão de cada osso em relação à sua posição horizontal, até antes da sua ruptura pela ação da força aplicada.

Os ossos utilizados nas análises de resistência e deformidade, foram encaminhados para a determinação do teor de matéria seca (método 934.01) e matéria mineral (método 942.05) no fêmur, segundo as metodologias propostas pela AOAC International (2005).

5.2.4 Incidência da síndrome do osso negro

A avaliação da incidência da síndrome do osso negro foi realizada na sobrecoxa esquerda, conforme Melo *et al.*, (2020), que após descongelamento em geladeira a 4°C foi cozida em água fervente, pelo período de 30 minutos. Após o cozimento, a amostra foi submetida à incisão, por meio de bisturi, no sentido do comprimento do osso e a musculatura afastada para a avaliação da incidência de síndrome do osso negro, adotando a metodologia de avaliação macroscópica do escurecimento da carne, atribuindo os seguintes escores: 0, 1 ou 2, de acordo com a aparência. Escore 0 foi classificada como aceitável (região próxima ao osso sem escurecimento), escore 1 como intermediária (menos de 50% da região próxima ao osso comprometida) e escore de 2 como inaceitável (mais de 50% da região próxima ao osso comprometida).

5.2.5 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada usando o software “Statistical Analyses System” (SAS, 2000). Os parâmetros de qualidade óssea foram submetidos à análise de variância pelo procedimento ANOVA, seguindo um modelo inteiramente casualizado. A comparação das médias foi realizada pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade. Análise dos dados de escores da síndrome do osso negro entre os tratamentos foi realizada pelo teste qui-quadrado.

5.3 Resultados e discussão

5.3.1 Parâmetros de crescimento e qualidade óssea

Conforme os resultados (Tabela 14) não houve diferença significativa entre os tratamentos para os parâmetros, peso, comprimento, densidade óssea, resistência e deformidade óssea e proporção de matéria seca e mineral determinados no fêmur dos frangos. Esses resultados indicam que as diferentes combinações de anacardato de cálcio e ácido cítrico avaliadas não proporcionaram alterações positiva ou negativas no crescimento e na qualidade óssea dos frangos.

Tabela 14- Parâmetros de crescimento e qualidade óssea determinados em fêmur de frangos de corte alimentados com rações contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	Peso (g)	Comp. ¹ (mm)	IS ² (mg/mm)	Resist. ³ (kgf/cm ²)	Deform. ⁴ (mm)	MS ⁵ (%)	MN ⁶ (%)
Controle negativo	8,70	74,13	117,47	20,13	4,68	38,82	38,94
Controle positivo	8,80	73,84	119,10	20,46	4,99	39,80	38,80
0,25% AnCa ⁷ + 0,25% AC ⁸	8,75	74,32	117,93	20,37	5,31	39,32	39,79
0,50% AnCa + 0,25% AC	8,90	74,17	120,09	18,72	4,56	39,49	39,15
0,50% AnCa + 0,50% AC	8,98	73,44	122,18	21,96	4,74	40,32	41,17
0,75% AnCa + 0,25% AC	8,80	73,45	119,90	19,42	5,31	39,35	41,23
0,75% AnCa + 0,50% AC	8,70	73,75	117,96	23,35	4,88	38,92	41,44
0,75% AnCa + 0,75% AC	8,68	73,37	118,35	20,24	4,54	38,80	41,69
EPM ⁹	0,109	0,320	1,371	0,525	0,160	0,329	0,346
ANOVA ¹⁰ (p-valor)	1,00	0,99	0,99	0,48	0,89	0,95	0,13

¹ Comprimento; ² Densidade óssea; ³ Resistência; ⁴ Deformidade; ⁵ Matéria seca; ⁶ Matéria mineral; ⁷ Anacardato de cálcio; ⁸ Ácido cítrico; ⁹ Erro padrão da média; ¹⁰ Análise de variância.

Os relatos da ação do ácido anacárdico reduzindo os efeitos da indução da discondroplasia tibial em frangos de corte (JIANG *et al.*, 2019), e de que em razão das características químicas e do potencial de dissociação do anacardato de cálcio um pH mais ácido no trato digestório dos frangos seria requerido para sua maior dissociação (CRUZ *et al.*, 2019). Portanto, a sua adição, em combinação com ácido cítrico, poderia oferecer essa condição (FERREIRA *et al.*, 2020). Ademais, criou a expectativa de que a adição do anacardato de cálcio como fonte de ácido anacárdico em associação com ácido cítrico pudesse contribuir para melhoria da qualidade óssea dos frangos de corte. Contudo, os resultados obtidos para os parâmetros ósseos do fêmur dos frangos não sustentam a hipótese de ação sinérgica, de modo

que a associação em nível de até 0,75% de AnCa + 0,75% de AC não trouxe benefícios para os parâmetros de crescimento e qualidade óssea avaliados em relação aos tratamentos controle negativo e controle positivo.

O aumento nos níveis de espécies reativas ao oxigênio relacionado ao estresse oxidativo inibe a mineralização óssea, elevando a atividade dos osteoclastos e induzindo a apoptose de osteoblastos e osteócitos (DOMAZETOVIC *et al.*, 2017). Assim, a melhoria na qualidade óssea dos frangos com adição de ácido anacárdico na ração relatada por Jiang *et al.* (2019) foi associada pelos autores à ação antioxidante do ácido anacárdico.

O efeito antioxidante da adição de AnCa + AC também foi observada na presente pesquisa, visto que as aves alimentadas com os diferentes níveis de combinação apresentaram menores valores de TBARS no sangue e no fígado em relação às aves alimentadas sem nenhum aditivo na ração. Contudo, a redução do estresse oxidativo com a adição do AnCa + AC não foi suficiente para influenciar as características de crescimento e qualidade óssea dos frangos.

Todavia vale destacar que os efeitos protetores sobre a perda e reabsorção óssea do ácido anacárdico beneficiando as características ósseas em frangos de corte (JIANG *et al.*, 2019) foram observados sob desafio do sistema ósseo, com a indução de discondroplasia tibial por agente químico, enquanto, as aves avaliadas por Cruz *et al.* (2019) e na presente pesquisa foram submetidas apenas aos desafios naturais da condição de criação das aves durante o experimento que, certamente, não proporcionou situações adversas que influenciasses o crescimento e qualidade óssea, visto que os resultados obtidos para aves alimentadas sem qualquer aditivo na ração foram semelhantes aos obtidos para as aves dos demais tratamentos. Sabe-se que o grau e a duração do estresse experimentado pelas aves influenciam na eficiência das respostas aos antioxidantes (LARA; ROSTAGNO, 2013).

Embora seja uma constatação frequente que devido aos seus efeitos antioxidantes e ação anti-inflamatória os polifenóis podem ter efeitos positivos nas características ósseas e que estes podem proteger a saúde do osso através de diferentes mecanismos, pois aumentam a osteoblastogênese, suprimem a osteoclastogênese e têm ação osteoimunológica (ĐUKARIČ *et al.*, 2015), a variabilidade no efeito dos compostos fenólicos com propriedades antioxidantes sobre os parâmetros ósseos tem sido observada. Assim, semelhante às constatações verificadas na presente pesquisa, Leskovec *et al.* (2018) relataram que embora os polifenóis da azeitona tenham demonstrado efeitos positivos na saúde óssea, melhorando a resistência óssea e reduzindo a perda óssea em camundongos e ratos, a utilização do extrato da folha da azeitona não teve nenhum efeito sobre a mineralização óssea em frangos de corte.

5.3.2 Incidência da síndrome do osso negro

Quanto à incidência da síndrome do osso negro nas amostras de sobrecoxa dos frangos de corte (Tabela 15), observou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos. Embora as aves alimentadas com as rações controle negativo tenham apresentado a menor percentagem de amostras aceitáveis (16,67%) em relação aos resultados obtidos com a adição de 0,50% AnCa + 0,25% AC (50%), não houve diferença significativa.

Tabela 15- Número e incidência de amostras por escores de coloração da carne das coxas de frangos de corte alimentados com ração contendo anacardato de cálcio e ácido cítrico

Tratamentos	Escores de avaliação					
	0 – Aceitável		1 – Intermediário		2 – Inaceitável	
	Num. ¹	% ²	Num.	%	Num.	%
Controle negativo	1	16,67	5	83,33	0	0,00
Controle positivo	2	33,33	4	66,67	0	0,00
0,25% AnCa ³ + 0,25% AC ⁴	2	33,33	4	66,67	0	0,00
0,50% AnCa + 0,25% AC	3	50,00	3	50,00	0	0,00
0,50% AnCa + 0,50% AC	2	33,33	4	66,67	0	0,00
0,75% AnCa + 0,25% AC	2	33,33	4	66,67	0	0,00
0,75% AnCa + 0,50% AC	2	33,33	4	66,67	0	0,00
0,75% AnCa + 0,75% AC	1	16,67	5	83,33	0	0,00
Total	14	29,17	34	70,83	0	0,00
<i>p – valor</i>	0,9598		0,9972		1,0000	

¹ Número de amostras por escore; ² Frequência; ³ Erro padrão da média;

A síndrome do osso negro é caracterizada pelo escurecimento da carne adjacente ao osso devido ao extravasamento de sangue da medula óssea para a carne. Nesse contexto, a melhoria na qualidade óssea tem sido associada a redução do extravasamento do sangue do osso e, conseqüentemente, em menor incidência de síndrome do osso negro (BALDO *et al.*, 2013). Assim, a semelhança dos parâmetros de crescimento e qualidade óssea entre os diferentes tratamentos pode justificar a similaridade na incidência da síndrome do osso negro entre os tratamentos, observados nesta pesquisa. Todavia Melo *et al.* (2020) relataram redução na incidência de síndrome do osso negro em frangos de cortes alimentados com extrato etanólico do caroço da manga, sem que houvesse alterações nos parâmetros de crescimento e qualidade óssea.

A oxidação da hemoglobina do sangue extravasado do osso e da mioglobina do músculo são fatores importantes para a determinar o escurecimento da carne em torno do osso,

podendo influenciar na incidência e intensidade dessa síndrome. Assim, segundo Melo *et al.* (2020), os compostos fenólicos encontrados no extrato etanólico do caroço da manga podem contribuir para evitar a oxidação da hemoglobina extravasada e mioglobina muscular, visto que estes podem reagir com o ferro e formar um complexo com Fe^{+2} , acelerando a sua oxidação e formação de um complexo polifenol com Fe^{+3} , que é mais estável. Nesse contexto, vale destacar que o ácido anacárdico atua como um antioxidante de várias maneiras, incluindo a inibição de várias enzimas pró-oxidantes envolvidas na produção de radicais livres e por quelação dos íons metálicos divalentes, com alta seletividade para o íon Fe^{+2} e, portanto, poderia exercer os mesmos efeitos relatados por Melo *et al.* (2020), o que não se confirmou uma vez que os diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico não reduziram significativamente a incidência de síndrome do osso negro.

5.4 Conclusão

A adição de até a maior dose testada, 0,75% de anacardato de cálcio em associação com 0,75% ácido cítrico na ração de frangos de corte não altera o crescimento e a qualidade óssea, bem como a incidência da síndrome do osso negro.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na presente pesquisa, ficou evidente que a associação de anacardato de cálcio e ácido cítrico pode influenciar nos níveis séricos de ácido úrico, reduzindo os valores medidos, principalmente em frangos aos 21 dias de idade. Esse efeito pode indicar que a excreção de nitrogênio ficou comprometida, refletindo na redução de consumo para reduzir a ingestão de proteína e, conseqüentemente, comprometeu o ganho de peso, sem prejudicar a conversão alimentar. Todavia esse efeito precisa ser mais bem elucidado em novas pesquisas.

Embora a associação de anacardato de cálcio e ácido cítrico reduza o consumo e o ganho de peso na fase de 1 a 21 dias de idade, no período total de criação (1 a 42 dias de idade), o efeito negativo sobre o consumo de ração reduz a ponto de promover ganho de peso semelhante entre as aves alimentadas com AnCa + AC e sem este aditivo. Esses resultados possibilitaram a obtenção de melhor conversão alimentar, aos 42 dias de idade, para as aves alimentadas com AnCa + AC nos níveis de combinação 0,50% AnCa + 0,50% AC; 0,75% AnCa + 0,25% AC; 0,75% AnCa + 0,50% AC em relação aos tratamentos controle negativo e controle positivo, favorecendo uma produção mais eficiente e impactando diretamente no sucesso da produção, em um sistema de produção cada vez mais competitivo e tecnificado.

A adição da associação de anacardato de cálcio e ácido cítrico pode influenciar no estado oxidativo sérico e no fígado, reduzindo a oxidação lipídica. Assim, pode-se inferir que esses compostos combinados podem vir a contribuir para o equilíbrio oxidativo em situações que tendem a gerar maior quantidade de radicais livres, que comumente são verificadas na criação de aves, como as diversas situações estressoras relacionada ao calor excessivo, a maior densidade de criação, dentre outras.

Além disso, os benefícios podem se estender até o produto final e beneficiar o consumidor. A adição de AnCa + AC promoveu aumento na concentração de compostos fenólicos, atividade e capacidade antioxidante da carne *in natura* e redução na oxidação lipídica da carne *in natura* e armazenada, favorecendo a manutenção das características do produto e, também, a oferta de carne com menor quantidade de radicais livres e com maior potencial antioxidante, o que pode contribuir para a saúde humana.

A avicultura brasileira tende a seguir às recomendações de organismos internacionais e, também, atender as exigências cada vez maiores dos consumidores, quanto à retirada dos antibióticos melhoradores de desempenho e a outros aditivos sintéticos da alimentação dos frangos de corte. Nesse cenário, a associação de anacardato de cálcio e ácido cítrico se mostra

como um produto que pode contribuir para a avicultura brasileira atender as demandas do mercado.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-FATTAH, S. A., *et al.* Thyroid activity of broiler chicks fed supplemental organic acids. **International Journal of Poultry Science**,7:215–222, 2008.
- ABD EL-GHANY; SHAALAN, W. A., M.; SALEM, H. M. Nanoparticles applications in poultry production: an updated review. **Worlds Poultry Science**, J. 77:1001–1025. 2021.
- ABD EL-HACK, M. E., *et al.* Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 101:5747–5762. 2021.
- ABD EL-HACK, M. E. *et al.* Essential oils and their nanoemulsions as green alternatives to antibiotics in poultry nutrition: a comprehensive review. **Poultry Science**, v 101, 101584, 2022a.
- ABD EL-HACK, M. E. *et al.* Alternatives to antibiotics for organic poultry production: types, modes of action and impacts on bird's health and production. **Poultry Science**, 101, 4: 101696, 2022b.
- ABD EL-HACK, *et al.* Hot red pepper powder as a safe alternative to antibiotics in organic poultry feed: an updated review. **Poultry Science**, 101:101684, 2022d.
- ABD EL-HACK, *et al.* Pharmacological, nutritional and antimicrobial uses of Moringa oleifera Lam. leaves in poultry nutrition: an updated knowledge. **Poultry Science**, 101:102031, 2022c.
- ABDEL-SALAM *et al.* Citric acid effects on brain and liver oxidative stress in lipopolysaccharide-treated mice. **Journal of Medicinal Food**, 17, 588-598. 2014.
- ABDELNOUR S.A. *et al.* Mitigating negative impacts of heat stress in growing rabbits via dietary prodigiosin supplementation. **Livestock Science**, 2020;240.
- ABDEL-MONEIM, A. M. E. *et al.* The role of polyphenols in poultry nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 104, n. 6, 1851-1866, 2020.
- ABUDABOS, A. M. *et al.* Effect of using organic acids to substitute antimicrobial growth promoters on broiler chickens' performance. **Journal of Food Agriculture and Environment**, 12:447–451, 2014.
- ABREU, V.K.G., *et al.* 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**, 41, 1-9, 2017.
- ABREU, V.K.G., *et al.* Lipid and colour stability of the meat and sausages of broiler fed with calcium anacardate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 99, 2124-2131, 2019.
- ADAMS, C.A. **Nutricines: food components in health and nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. 128 p.

ADEYEMI, K. *et al.* Influence of *Anacardium occidentale* leaf supplementation in broiler chicken diet on performance, caecal microbiota, blood chemistry, immune status, carcass, and meat quality. **British Poultry Science**, 62, 552-561 2021.

ADEWOLE, D., *et al.* Effect of organic acids–essential oils blend and oat fiber combination on broiler chicken growth performance, blood parameters, and intestinal health. **Animal Nutrition**, 7, 1039-1051, 2021.

ADIL, S. *et al.* Response of broiler chicken to dietary supplementation of organic acids. **Journal of Central European Agriculture**, 12: 498–508, 2011.

AFSHARMANESH, M.; POURREZA, J. Effect of calcium, citric acid, ascorbic acid, vitamin D3 on the efficacy of microbial phytase in broiler starters fed wheat-based diets on performance, bone mineralization and ileal digestibility. **International Journal of Poultry Science**, 4:418–424, 2005.

ALCICEK, A. *et al.* The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. **South African Journal of Animal Science**, 34:217–222, 2004.

ALÇIÇEK, A. *et al.* The effects of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. **South African Journal of Animal Science**, 33, 89–94, 2003.

ALLEN, C.D. The relationship of broiler meat color and pH to shelf-life and odor development. **Poultry Science**, 76, 1042–1046, 1997.

ALTINDAG, O., *et al.* Total oxidative/anti-oxidative status and relation to bone mineral density in osteoporosis. **Rheumatology International**, 28,317-321, 2008.

ALTOP, A., The effects of diets supplemented with fermented or non-fermented cherry kernels (*Prunus avium* L.) on growth performance, ileal histology, caecum microflora, and some meat quality parameters in broiler chickens. **European Poultry Science**, 83, 1-15, 2019.

ANDRADE JÚNIOR, D. R. *et al.* Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. **Jornal Brasileiro Pneumologia**, 31, 60-68, 2005.

ANDRADE, T. J. A. S., *et al.* Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistr**, 3, 1044-1048, 2011.

ANGUMEENAL, A.; VENKAPPAYYA, D. An overview of citric acid production. **Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 367-370, 2013.

APPELT, M.D. *et al.* Levels of probiotics in animal and vegetal origin feed for broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39, 765-771, 2010.

AOAC International. Official Methods of analysis. **Association of Official Analytical Chemists**, 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, United States, 2005.

ARSI, K. *et al.* The efficacy of the natural plant extracts, thymol and carvacrol against *Campylobacter* colonization in broiler chickens. **Journal of Food Safety**, 34:321–325, 2014.

ARABSHAHI-DELOUEE, S., UROOJ., J.A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica L.*) leaves. **Food Chemistry**, 102, 1233-1240, 2007.

ASHOUR, E. A. *et al.* Impacts of dietary supplementation of pyocyanin powder on growth performance, carcass traits, blood chemistry, meat quality and gut microbial activity of broilers. **Italian Journal of Animal Science**, 20:1357–72. 9, 2021.

ATTIA, Y.A., A.A. B AKHASHWAIN, N.K. BERTU, 2018: Utilisation of thyme powder (*Thyme vulgaris L.*) as a growthpromoter alternative to antibiotics for broiler chickens raised in a hot climate. **European Poultry Science**, 82, 15.

AWAKAN, O. J. *et al.* Anti-inflammatory and bronchodilatory constituents of leaf extracts of *Anacardium occidentale L.* in animal models. **Journal of Integrative Medicine**, 2017.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils. a review. **Food and Chemical Toxicology**, 46:446–475, 2008.

BAHADORAN, S. *et al.* Effect of sage (*Salvia officinalis L.*) extract in antioxidant status and intestinal morphology of pulmonary hypertensive chickens. **Veterinary Medicine and Science**, 9: 2176–2184, 2022.

BALDO, G.A.A., *et al.* Black bone syndrome in chicken meat. **Brazilian Journal of Poultry Science**, 15, 317-322, 2013.

BANDAY, M. T. *et al.* A study of efficacy of fumaric acid supplementation in diet of broiler chicken. **International Journal of Poultry Science**, 14: 589–594, 2015.

BARACUHY, J. D. V. *et al.* **Plantas medicinais de uso comum no nordeste do Brasil**. 2 ed. Campina Grande: Editora da Universidade Federal de Campina Grande, 33 p, 2014.

BENTO M. H. L. *et al.* Essential oils and their use in animal feeds for monogastric animals - Effects on feed quality, gut microbiota, growth performance and food safety: a review. **Veterinarni Medicina**, 58, (9): 449–458, 2013.

BERNABUCCI, U. *et al.* Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. **Journal of Dairy Science**, 85, 2173 – 2179, 2002.

BIGGS, P.; PARSONS, C. M. The effects of several organic acids on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. **Poultry Science**, 87: 2581–2589, 2008.

BOROOJENI, F. The effects of different thermal treatments and organic acid levels in feed on microbial composition and activity in gastrointestinal tract of broilers. **Poultry Science**, 93: 1440–1452, 2014.

BORSA, A. *et al.* Serum levels of hepatic enzyme function in clinically healthy broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 58, 675-677, 2006.

BRAZ, D.B., *et al.* Acidifiers as an alternative to antimicrobial growth promoters for piglets. **Archivos de Zootecnia**, 60, 745-756, 2011.

BRAZ, N.M., *et al.* Performance and egg quality of laying hens fed different dietary levels of cashew nut shell liquid. **South African Journal of Animal Science**, 49, 513-521, 2019.

BRAZ, N. M., *et al.* 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**, 2017.

BRENES, A. *et al.* The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**, 110:201–219, 2003.

BRENES, A.; ROURA E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, 158, pp. 1-14, 2010.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, 2011.

BRUNO, L.D.G., *et al.* Influence of early quantitative food restriction on long bone growth at different environmental temperatures in broiler chickens. **British Poultry Science**, 41, 389–394, 2000.

BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food—A review. **International Journal of Food Microbiology**, 94:223–253, 2004.

CASTANON J. I. R. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. **Poultry Science**, 86: 2466–2471, 2007.

CEYLAN, E.; FUNG, D. Y. C. Antimicrobial activity of spices. **Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 1-55, 2004

COSBY D. E. *et al.* Salmonella and antimicrobial resistance in broilers: a review. **Journal of Applied Poultry Research**, 24: 408–426, 2015.

COSTA, F. G. P. *et al.* Economic and environmental impact of using exogenous enzymes on poultry feeding. **International Journal of Poultry Science**, 7, 311–314, 2008.

CRANDALL, P. G. Organic poultry: consumer perceptions, opportunities and regulatory issues. **Journal of Applied Poultry Research**, 18:795–802, 2009.

CHERIAN, G. *et al.* Muscle fatty acid composition and thiobarbituric acid-reactive substances of broilers fed different cultivars of sorghum. **Poultry Science**, v. 81, n.9, p. 1415-1420, 2002.

CHEN, J. *et al.* Effects of compound feed additive on growth performance and intestinal microbiota of broilers. **Poultry Science**, 102, 103-117, 2023.

CHOI, I. H. *et al.* Effects of dietary garlic powder and α -tocopherol supplementation on performance, serum cholesterol levels, and meat quality of chicken. **Poultry Science**, 89:1724-1731, 2010.

CHOI S.H. Contribution of dps to acid stress tolerance and oxidative stress tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. **Applied and Environmental Microbiology**, 66, 3911-3916, 2000.

CHOCT, M. Managing gut health through nutrition. **British Poultry Science**, 50, 9–15, 2009.

CHOWDHURY, R., *et al.* Effect of citric acid, avilamycin, and their combination on the performance, tibia ash, and immune status of broilers. **Poultry Science**, 88:1616–162. 2009.

CHOWDHURY, S., G. P. *et al.* Different essential oils in diets of broiler chickens: 2. Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes. **Animal Feed Science and Technology**, 236:39–47, 2018.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, 12:564–582, 1999.

CROFT, K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, v.854, p.435-442, 1998.

CRUZ, C.E.B. Blood parameters and enzymatic and oxidative activity in the liver of chickens fed with calcium anacardate. **Revista Ciência Agronômica**, 49, 343-352, 2018.

CRUZ, C.E.B., *et al.* Calcium anacardate in the diet of broiler chickens: the effects on growth and bone quality. **Revista Ciência Agronômica**, 50, 329-337, 2019.

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, 11: 453–463, 2002.

DEGHANI-TAFTI, A., JAHANIAN, R. Effect of supplemental organic acids on performance, carcass characteristics, and serum biochemical metabolites in broilers fed diets containing different crude protein levels. **Animal Feed Science and Technology**, 211, 109-116, 2016.

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

DOMAZETOVIC, V., *et al.* Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants. **Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism**, 14, 209-216, 2017.

DORMAN, H. J.; S. G. DEANS. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, 88:308–316, 2000.

DEMIREL G. *et al.* Effects of dietary supplementation of citric acid, copper, and microbial phytase on growth performance and mineral retention in broiler chickens fed a low available phosphorus diet. **Journal of Applied Poultry Research**, 2012.

DRAPER, H.H., HADLEY, M. Malondialdehyde Determination as Index of Lipid Peroxidation. **Methods Enzymol**, 186, 421-431, 1990.

DU, J.; CULLEN, J.J.; BUETTNER, G.R. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of câncer. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1826 443e457, 2012.

ĐUKARIČ, L., *et al.* The role of polyphenols on bone metabolism in osteoporosis. **Food Research International**, 77, 290-298, 2015.

ELNAGGAR, A. SH. Impact of using organic acids on growth performance, blood biochemical and hematological traits and immune response of ducks (*cairina moschata*). **Egyptian Poultry Science Journal**, 37, pp. 907-925, 2017.

EMBRAPA. Produção de castanha do caju cresce 33% em 2022. <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/78004497/producao-de-castanha-do-caju-cresce-33-em-2022>. Acesso 20/06/2023.

FACT. MR, Organic Chicken Market. <https://www.factmr.com/report/1554/organic-chicken-market>. Acesso 18/09/2023

FASCINA, V.B. *et al.* Phytogetic additives and organic acids in broiler chicken diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41, 2189-2197, 2012.

FASCINA., V.B, *et al.* Effects of phytogetic additives and organic acids, alone or in combination, on the performance, intestinal quality and immune responses of broiler chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, 19, 497-508, 2017.

FARIAS, N. N. P. *et al.* Ethanolic extract of mango seed in broiler feed: Effect on productive performance, segments of the digestive tract and blood parameters. **Animal Feed Science and Technology**, 114999, 2021.

FARIAS, N. N. P. *et al.* Ethanolic extract of mango seed in feeding of broilers: phenolic complunds, antioxidante activity and meat quality. **Canadian Journal of Animal Science**, 100, 299-307, 2020.

FERREIRA, C.S. *et al.* Alterations to oxidative stress markers in dogs after a short-term stress during transport. **Journal of Nutritional Science**, 3, 1-5, 2014.

FERREIRA. J.L., *et al.* Calcium anacardate and citric acid as growth promoters for weaned piglets. **Livestock Science**, 238, 104084. 2020.

FIKRY, A.M. *et al.* Dietary citric acid enhances growth performance, nutrient digestibility, intestinal microbiota, antioxidant status, and immunity of Japanese quails. **Poultry Science**, 100, 101326, 2021.

FLEMING, S. E.; CHOI, S. Y.; FITCH, M. D. Absorption of short-chain fatty acids from the rat cecum in vivo. **The Journal of Nutrition**, v. 121, p.1787-1797, 1991.

FRASAO, B.S., *et al.* Impact of juçara (*Euterpe edulis*) fruit waste extracts on the quality of conventional and antibiotic-free broiler meat. **Poultry Science**, 100, 101232, 2021.

FREITAS, E. R., *et al.* Effect of dietary ethanol extracts of mango (*Mangifera indica L.*) on lipid oxidation and the color of chicken meat during frozen storage. **Poultry Science**, 12, 2989-2995, 2015.

FREITAS, E.R *et al.* Calcium anacardate in the diet of broiler chickens: Performance, carcass characteristics and meat quality. **Livestock Science**, 263, 105002, 2022.

GADDET, U. *et al.* Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. **Animal Health Research Reviews**, 18, 1; 26–45, 2017.

GAO, J.; SU, Y.; WANG, Z. Engineering bacterial membrane nanovesicles for improved therapies in infectious diseases and câncer. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 186, 114340, 2022.

GELLERMAN, J. L. *et al.* Antimicrobial effects of anacardic acids. **Canadian Journal of Microbiology**, 15, 1219-1223, 1969.

GENOVESE, M.I., *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, 14, 207-221, 2008.

GONZÁLES, E. *et al.* Enfermidades metabólicas em frangos de corte in: ANDREATI FILHO, R. L. *et al.* **Doenças das aves**, FACTA, 3º edição, p. 1153-1182. 2020.

GRECHKIN, A. Recent developments in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway. **Progress in Lipid Research**, 37, 317-352, 1998.

GUNGOR, E., ERENER, G. Effect of dietary raw and fermented sour cherry kernel (*Prunus cerasus L.*) on growth performance, carcass traits, and meat quality in broiler chickens. **Poultry Science**, 99, 301–309, 2019.

GUO *et al.* Effect of a Chinese herb medicine formulation, as an alternative for antibiotics, on performance of broilers, **British Poultry Science**, 45, 6, pp. 793–797 2004.

HABIBI, R., G. H. SADEGHI; KARIMI, A. Effect of different concentrations of ginger root powder and its essential oil on growth performance, serum metabolites and antioxidant status in broiler chicks under heat stress. **British Poultry Science**, 55:228–237, 2014.

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

HASHEMI SR, DAVOODI H. Phytochemicals as new class of feed additive in poultry industry. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 9:2295–2304, 2010.

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.

HASHEMIPOUR, H. *et al.* Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. **Poultry Science**, 92:2059–2069, 2013.

HE, L. *et al.* Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 44, n.2, p. 532-553, 2017.

HELLWEG, P. *et al.* Impacto of potassium diformate on gut flora of weaned piglets. **Proceedings of the Society of Nutritional Physiology**, v. 9, p. 63, 2006.

HERNÁNDEZ, F. *et al.* Effect of formic acid on performance, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chickens. **British Poultry Science**, 47: 50–56, 2006.

HOLLANDS, A. *et al.* Natural product anacardic acid from cashew nut shells stimulates neutrophil extracellular trap production and bactericidal activity **International Journal of Biological Chemistry**, 291, pp. 13964-13973, 2016.

HUYGHEBAERT G.; DUCATELLE R.; VAN IMMERSEEL, F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, 187: 182–188, 2011.

HUNTON, P. 100 years of poultry genetics. **World's Poultry Science Journal**, 62:417–428, 2006.

ISLAM, R.*et al.* Modulation of growth performance, gut morphometry, and cecal microbiota in broilers by clove (*Syzygium aromaticum*) and tulsi (*Ocimum sanctum*) supplementation. **Poultry Science**, v. 102, 102:102266, 2023.

ISLAM, K.M. *et al.* Effect of citric acid in low nutrient diet on growth and bone mineral metabolism of broiler Bang. **Journal of Animal Science**, 50, pp. 36-42, 2021.

ISLAM, K.M.S. Use of citric acid in broiler diets. **World's Poultry Science Journal**, V. 68, pp. 104 – 118, 2012.

ITO, N. M. K. *et al.* Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais in: MENDES, A. A. **Produção de Frangos de Corte**, p. 205-206, 2004.

JANASZEWSKA, A., BARTOSZ, G. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four method as applied to human blood plasma. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, 62, 231–236, 2002.

JANG, A., *et al.* Antioxidative Potential of Raw Breast Meat from Broiler Chicks Fed a Dietary Medicinal Herb Extract Mix. **Poultry Science**, 87, 2382–2389, 2008.

JANG, I. S. *et al.* Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, 134: 304–315, 2007.

JIANG., X., *et al.* Effect of Anacardic Acid against Thiram Induced Tibial Dyschondroplasia in Chickens via Regulation of Wnt4 Expression. **Animals**, 82, 2019.

JIMÉNEZ-MORENO, E. *et al.* Effects of type of cereal, heat processing of the cereal, and fiber inclusion in the diet on gizzard pH and nutrient utilization in broilers at different ages. **Poultry Science**, 88, 1925-1933, 2009.

JOHNSON, M. L., *et al.* The effect of dietary sinapic acid (4-hydroxy-3, 5-dimethoxy-cinnamic acid) on gastrointestinal tract microbial fermentation, nutrient utilization, and egg quality in laying hens. **Poultry Science**, 87:958-963, 2008.

JONATHAN, O. *et al.* Effect of dietary red grape pomace on growth performance, hematology, serum biochemistry, and meat quality parameters in Hy-line Silver Brown cockerels. **PLoS One**, 16, e0259630, 2021.

JUNIATIK, M., K. *et al.* Formulation of nanoemulsion mouthwash combination of lemongrass oil (*Cymbopogon citratus*) and kaffir lime oil (*Citrus hystrix*) for anticandidiasis against *Candida albicans* ATCC 10231. **Traditional Medicine Journal**, 22:7–15, 2017.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, 2, 41-60, 2009.

KELLY, C. *et al.* The in vitro and in vivo effect of carvacrol in preventing *Campylobacter* infection, colonization and in improving productivity of chicken broilers. **Foodborne Pathogens and Disease**, 14:341–349, 2017.

KERRY, N.L., ABBEY, M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. **Atherosclerosis Limerick**, v.135, n.1, p.93-102, 1997.

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

KIRCHGESSNER, M., ROTH, F. X. Energy value of organic acids in the rearing of piglets and the fattening of pigs. **Tierernah**, 16: 93-108, 1988.

KIRKHAM P, RAHMAN I. Oxidative stress in asthma and CPOD: antioxidants as a therapeutic strategy. **Pharmacology & Therapeutics**, 111:476-94, 2006.

KIRKPINAR, F., BORA UNL, H.; OZDEMIR, G. Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. **Livestock Science**, 137:219–225, 2011.

KOLLANOOR-JOHN, A. *et al.* Antibacterial effect of trans-cinnamaldehyde, eugenol, carvacrol, and thymol on *Salmonella enteritidis* and *Campylobacter jejuni* in chicken cecal contents in vitro. **Journal of Applied Poultry Research**, 19:237–244, 2010.

KOLLANOOR-JOHN, A. *et al.* Effect of therapeutic supplementation of the plant compounds trans-cinnamaldehyde and eugenol on *Salmonella enterica* serovar enteritidis colonization in market-age broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, 21:816–822, 2012.

KULSHRESHTHA G. *et al.* Feed supplementation with red seaweeds, *Chondrus crispus* and *Sarcodiotheca gaudichaudii*, affects performance, egg quality, and gut microbiota of layer hens. **Poultry Science**, 93:2991–3001, 2014.

KACZMAREK, S. A. *et al.* Effect of different doses of coated butyric acid on growth performance and energy utilization in broilers. **Poultry Science**, 95:851–859, 2016.

KRAUZE, M. *et al.* The effect of administration of a phytobiotic containing cinnamon oil and citric acid on the metabolism, immunity, and growth performance of broiler chickens. **Animals**, 11, 1-17, 2021

KROCKO, M., M. *et al.* Effect of nutrition with propolis and bee pollen supplements on bacteria colonization pattern in gastrointestinal tract of broiler chickens. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 45:63–67, 2012.

KUMAR, P. P. *et al.* Process for Isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale L.*) nut shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 4705–4708, 2002.

KUBO, I. *et al.* Antioxidant activity of anarcadic acids. **Food Chemistry**, 99, 555–562, 2006.

KUBO, I. *et al.* Antibacterial action of anarcadic acids against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 7624–7628, 2003.

KUBO, I., *et al.* Structure–antibacterial activity relationships of anarcadic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 41, 1016–1019, 1993.

KURALKAR, P., Kuralkar, S. Role of herbal products in animal production-an updated review. **Journal of Ethnopharmacology**, 278, 114246, 2021.

LARA, L. J.; ROSTAGNO, M. H. Impact of heat stress on poultry production. **Animals** 3, 356-369, 2013.

LA RAGIONE, R. M. *et al.* In vivo characterization of *Lactobacillus johnsonii* FI9785 for use as a defined competitive exclusion agent against bacterial pathogens in poultry. **Letters in Applied Microbiology**, 38:197–205, 2004.

LEESON, S. Metabolic challenges: past, present, and future. **Journal of Applied Poultry Research**, 16, 121–125, 2007.

LESKOVEC, J., *et al.* Effects of olive leaf and marigold extracts on the utilization of nutrients and on bone mineralization using two different oil sources in broilers. **The Journal of Poultry Science**, 55, 17-27, 2018.

LI, H. L. *et al.* Phytoncide, phytoenic feed additive as an alternative to conventional antibiotics, improved growth performance and decreased excreta gas emission without adverse effect on meat quality in broiler chickens. **Livestock Science**, 181:1–6, 2015.

LIEM, A.; G. M. PESTI; EDWARDS JUNIOR, H. M. The effect of several organic acids on phytase phosphorus hydrolysis in broiler chicks. **Poultry Science**, 87:689–693, 2008.

LEE, S. I. *et al.* Microencapsulated organic acid blend with MCFAs can be used as an alternative to antibiotics for laying hens. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, 39:520–527, 2015.

LOPEZ-ALARCÓN, C., DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays, **Analytica Chimica Acta**, 763, 1-10, 2013.

LÓPEZ, C.A.A. *et al.* Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 64, 1027-1035, 2012.

LUCKSTADT C, MELLOR S. Holoanalysis – the acid test in pig diets. **Krafftutter Feed Magazine**. 2010;1–2:18–21.

LUNA, A., *et al.* Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. **Poultry Science**, 89 :366–370, 2010.

LUO, J. *et al.* Effect of epigallocatechin gallate on growth performance and serum biochemical metabolites in heat-stressed broilers. **Poultry Science**, 97:599–606, 2018.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. BRASIL. Instrução Normativa SDA Nº 1 DE 13/01/2020. Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2020.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Secretaria de Defesa Agropecuária. Acessado em <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/arquivos-publicacoes-dipoa/treinamento-sif-2019-aves-requisitos-especificos.pdf> [Acesso 10 Julho 2023].

MACCIONI R. B.; MUNOZ J. P.; BARBEITO L. The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. **Archives of Medical Research**, 32:367- 81, 2001.

MAKAR, A. B. *et al.* Formate metabolismo in Young swine. **Toxicology and Applied Pharmacology**. v. 105, n2, p. 315-320, 1990.

MAY, J. M. Vitamin C transport and its role in the central nervous system, **Subcellular Biochemistry**, 56, 85e103, 2012.

MAHFUZ, S., *et al.* Phenolic compounds as natural feed additives in poultry and swine diets: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 1:48, 2021.

MARCINC, A. K. *et al.* Antioxidative effect of oregano supplemented to broilers on oxidative stability of poultry meat. **Slovenian Veterinary Research**, 45:61–66, 2008.

MARTINEZ-AMEZCUA, C.; PARSONS, C. M.; BAKER, D. H. Effect of microbial phytase and citric acid on phosphorus bioavailability, apparent metabolizable energy, and amino acid

digestibility in distillers dried grains with soluble in chicks. **Poultry Science**, 85:470–475, 2006.

MATOS, A.V.S. *et al.* Calcium anacardate as growth promoter for piglets at the nursery phase. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 52, 1253-1260, 2017.

MAZUR-KUSNIREK, M., *et al.* The effect of polyphenols and vitamin E on the antioxidant status and meat quality of broiler chickens fed low-quality oil. **Archives Animal Breeding**, 62, 287–296, 2019.

MEDEIROS, L.G., *et al.* Performance, broiler carcass and meat quality characteristics supplemented with organic selenium. **Semina: Ciências Agrárias**, 33, 3361-3369, 2012.

MELAKU, M., Zhong, R., Han, H., Wan, F., Yi, B., Zhang, H., 2021. Butyric and citric acids and their salts in poultry nutrition: effects on gut health and intestinal microbiota. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, 10392, 2021.

MELO, M. C. A. *et al.* Black bone syndrome in broilers fed ethanolic extract of mango seeds **Poultry Science**, v. 99 Pages 3229-3236, 2020.

MEHDI, Y. *et al.* Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. **Animal Nutrition**, 2: 170-178, 2018.

MICCICHE, A. *et al.* Essential oils as an intervention strategy to reduce *Campylobacter* in poultry production: a review. **Frontiers in Microbiology**, 10:1058, 2019.

MIGUEL, M. G. 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. **Molecules**,15:9252–9587.

MOGHADAM, A. N.; POURREZA, J.; SAMIE, A. H. Effect of different levels of citric acid on calcium and phosphorus efficiencies in broiler chicks. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 9:1250–1256, 2006.

MORENO-MENDOZA, *et al.* Effect of moringa leaf powder and agave inulin on performance intestinal morphology, and meat yield of broiler chickens, **Poultry Science**, 100:738–745, 2021.

MURATA, M.; IRIE, J.; HOMMA, S. Inhibition of lipid synthesis of bacteria, yeast and animal cells by anacardic acids, glycerol-3-phosphate dehydrogenase inhibitors from ginkgo. **Food Science and Technology**, 30, 458-463, 1997.

MURATE L.S. *et al.* Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics on laying hens and broilers challenged with *Salmonella enteritidis*. **Journal Poultry Science**, 52:52–56, 2015.

MURUGESAN, G.R., *et al.* Phytogetic feed additives as an alternative to antibiotic growth promoters in broiler chickens. **Frontiers in Veterinary Science**, 2, 21, 2015.

NAMDEO, S. *et al.* Essential oils: a potential substitute to antibiotics growth promoter in broiler diet. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, 8:1643–1649, 2020.

NAMEGHI, et al. A blend of thyme and rosemary powders with poultry byproduct meal can be used as a natural antioxidant in broilers. **Acta Scientiarum**, v. 45, e57126, 2020.

NARASIMHAN, B., Panghal, A., Singh, N., Dhake, A.S., 2008. Efficiency of anacardic acid as preservative in tomato products. **Journal of Food Processing and Preservation**, 32, 600-609, 2008.

NASS. 2010. "National Agricultural Statistics Service". Accessed Nov. 2021. http://www.agcensus.usda.gov/Publications/2007/Online_Highlights/Organics/organics_1_10.pdf.

NAVA, G. M. *et al.*, Attene-Ramos, MS, Gaskins, HR and Richards, J. D. Molecular analysis of microbial community structure in the chicken ileum following organic acid supplementation. **Veterinary Microbiology**, 137: 345–353, 2009.

NEZHAD, Y. E., *et al.* Influence of citric acid and microbial phytase on performance and phytate utilization in broiler chicks fed a corn-soybean meal diet. **Iranian Journal of Veterinary Medicine**, 61:407–413, 2007.

NEZHAD, Y. E. *et al.* Effect of combination of citric acid and microbial phytase on digestibility of calcium, phosphorous and mineralization parameters of tibia bone in broilers. **African Journal of Biotechnology**, 10: 15089–15093, 2011.

NIU, Y., *et al.* Effect of fermented Ginkgo biloba leaves on nutrient utilization, intestinal digestive function and antioxidant capacity in broilers. **Br. Poultry Science**, 60, 47-55, 2018.

NOURMOHAMMADI, R., *et al.* Effect of dietary acidification on some blood parameters and weekly performance of broiler chickens. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 9, 3092-3097, 2010.

NOURMOHAMMADI, R. *et al.* Effect of citric acid and microbial phytase enzyme on ileal digestibility of some nutrients in broiler chicks fed corn-soybean meal diets. **Italian Journal of Animal Science**, 11, pp. 36-40, 2012.

NOURMOHAMMADI, R.; AFZALI, N. Effect of citric acid and microbial phytase on small intestinal morphology in broiler Chicken. **Italian Journal of Animal Science**, 12, pp. 44-47, 2013.

NOURMOHAMMADI, R, KHOSRAVINIA, H. Acidic stress caused by dietary administration of citric acid in broiler chickens. **Archives Animal Breeding**, 58, 309-315, 2015.

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

OGBUEWU I.P., OKORO V.M., MBAJIORGU C.A. Meta-analysis of the influence of phytobiotic (pepper) supplementation in broiler chicken performance. **Tropical Animal Health and Production**, 52:17–30, 2020.

OLKOWSKI, A. A. Pathophysiology of heart failure in broiler chickens: Structural, biochemical, and molecular characteristics. **Poultry Science**, 86:999–1005, 2007.

OUYANG, K., *et al.* Effects of alfalfa flavonoids on broiler performance, meat quality, and gene expression. **Canadian Journal of Animal Science**, 96, 332-341, 2016.

PACHER, P., *et al.* Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. **Pharmacological Reviews**, 58:87-114, 2006.

PARAMASHIVAPPA, R., *et al.* Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (*Anacardium occidentale L.*) nut shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49, 2548-2551, 2001.

PARHAM, P. **The immune system**. 4th ed. New York: Garland Publishing, Taylor and Francis Group; 2015.

PARK, J. H., KIM, I. H. Effects of dietary *Achyranthes japonica* extract supplementation on the growth performance, total tract digestibility, cecal microflora, excreta noxious gas emission, and meat quality of broiler chickens. **Poultry Science**, 99: 463–470, 2019.

PARKER, T.L., *et al.* Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Grapes, Sun-Dried Raisins, and Golden Raisins and Their Effect on ex Vivo Serum Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 8472–8477, 2007.

PARTANEN, K.; MROZ, Z. Organic acids performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research reviews*, Cambridge, v. 12, n. 1, p. 117-145, 1999.

PAWAR, S., PAL, S. C. Analgesic and anti-inflammatory activity of *Anacardium occidentale* root extracts. **Hamdard-Medicus**, 45, 63-68, 2002.

POLYCARPO, G.V., *et al.* Meta-analytic study of organic acids as an alternative performance-enhancing feed additive to antibiotics for broiler chickens. **Poultry Science**, 96, 3645–3653, 2017.

PONNAMPALAM, E.N. *et al.* In: in **Sustainable Meat Production and Processing**. Galanakis C.M., editor. Academic Press; London, UK: Chapter 2—Production strategies and processing systems of meat: current status and future outlook for innovation—a global perspective, 2019.

PUVACA, N. *et al.* Beneficial effects of phytoadditives in broiler nutrition. **Worlds Poultry Science**, J. 69:27–34, 2013.

PANDA, A. K. *et al.* Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, 22: 1026–1031, 2009.

PANDEY, A. K., P. KUMAR; M. J. SAXENA. Feed Additives in Animal Health. Pages 345–362 in **Nutraceuticals in Veterinary Medicine**. Springer, 2019.

PARTANEN, K. Organic acids – their efficacy and modes of action in pigs. In: PIVA,

A; BACH KNUDSEN, K.E.; LINDEBERG, J.E. (Ed.). **Gut Environment of Pigs**. Nottingham: Nottingham University Press, p. 201-217, 2001.

SURAI, P. F.; KOCHISH, I. I. Nutritional modulation of the antioxidant capacities in poultry: the case of selenium. **Poultry Science**, 98:4231–4239, 2019.

PIRGOZLIEV, V. *et al.* Growth performance and endogenous losses of broilers fed wheat-based diets with and without essential oils and xylanase supplementation. **Poultry Science**, 94: 1227–1232, 2015.

PISOSCHI, A. M.; A. POP. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 97:55– 74, 2015.

RAHEEM, M. A. *et al.* Response of lymphatic tissues to natural feed additives, curcumin (*Curcuma longa*) and black cumin seeds (*Nigella sativa*), in broilers against *Pasteurella multocida*, **Poultry Science**, 100:101005, 2021.

RAHMANI, H. R.; SPEER, W. Natural additives influence the performance and humoral immunity of broilers. **International Journal of Poultry Science**, 4:713–717, 2005.

RAMAY, M. S., YALÇIN, S. Effects of supplemental pine needles powder (*Pinus brutia*) on growth performance, breast meat composition, and antioxidant status in broilers fed linseed oil-based diets. **Poultry Science**, 0, 1-8, 2019.

RATH, N. C. *et al.* Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, 79:1024–1032, 2000.

RAFACZ-LIVINGSTON, K. A. *et al.* Citric acid improves phytate phosphorus utilization in crossbred and commercial broiler chicks. **Poultry Science**, 84:1370–1375, 2005.

RE, R., *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS^{o+} radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26, 1231-1237, 1999.

ROSEN, M. J. **Surfactants and Interfacial Phenomena**, 2nd ed.; Wiley-Interscience: New York, 1989; pp 1-32.

ROSSI, R., *et al.* Poultry meat quality in antibiotic free production has improved by natural extract supplement. **Animals**, 12, 2599, 2022.

ROSTAGNO, H.S., *et al.* **Brazilian tables for poultry and swine: composition of feedstuffs and nutritional requirements**, 5^a ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brazil, 2017.

ROTAVA, R., Zanella, I., Karkow, A.K., Dullius, A.P., Silva, L.P., Denardin, C.C., Blood biochemistry of poultry fed with grape by-products. **Agrarian**, 1, 91-104, 2008.

RUSSEK, M. **Neuroscience Research**, 4., 214-282, 1971.

SAMANTA, S.; HALDAR, S.; GHOSH, T. K. Production and carcass traits in broiler chickens given diets supplemented with inorganic trivalent chromium and an organic acid blend. **British Poultry Science**, 49: 155–163, 2008.

SANTOS, R.C. *et al.* Calcium anacardate as source of anacardic acid in laying Japanese quail diet. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 94, e20190410, 2022.

SMET, K., *et al.* Lipid and Protein Oxidation of Broiler Meat as Influenced by Dietary Natural Antioxidant Supplementation. **Poultry Science**, 87, 1682-1688, 2008.

SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. Influence of subinhibitory concentrations of plant essential oils on the production of enterotoxins A and B and alpha-toxin by *Staphylococcus aureus*. **Journal of Medical Microbiology**, 53:1023–1027, 2004.

SUN, Y., *et al.* Inhibition of histone acetyltransferase activity by anacardic acid sensitizes tumor cells to ionizing radiation. **Federation of European Biochemical Societies**, 580, 4353-4356, 2006.

SUNG, B *et al.* Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-kappa B-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor-kappa B alpha kinase, leading to potentiation of apoptosis. **Blood**, 111, 4880-4891, 2008.

OVIEDO-RONDÓN, E.O., Holistic view of intestinal health in poultry. **Animal Feed Science and Technology**, 250, 1-8. 2019.

RAHIMI, S. *et al.* Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. **Journal of Agricultural Science and Technology**, 13:527–539, 2011.

SAHIN, K. *et al.* Lycopene activates antioxidant enzymes and nuclear transcription factor systems in heat-stressed broilers. **Poultry Science**, 95, 1088-1095, 2016.

SALGADO-TRÁNSITO, L. *et al.* Effect of citric acid supplemented diets on aflatoxin degradation, growth performance and serum parameters in broiler chickens. **Archivos de Medicina Veterinaria**, 43: 215–222, 2011.

SAKOMURA, N.K., ROSTAGNO, H.S., **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2ª edição, Jaboticabal: Funep, 2016, 262p.

SAUTIN, Y.Y., JOHNSON, R.J. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. **Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids**, 27, 608-19, 2008.

SAVASKY, B.M., *et al.* Nutritional and pharmacological effects on oxidative stress in soft tissue and bone remodeling. **Journal of Nutrition and Metabolism**, 27, 4183407, 2018.

SAVOIA, D. “Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics,” **Future Microbiology**, vol. 7, no. 8, pp. 979–990, 2012.

SVIHUS, B. Function of the digestive system. **Journal of Applied Poultry Research**, 23, 306-314, 2014.

SCHMIDT, E., *et al.* Clinical pathology in poultry - a tool to improve poultry health - a review. **Archives of Veterinary Science**, 12, 9-20, 2007.

SCICUTELLA, F., *et al.* Polyphenols and organic acids as alternatives to antimicrobials in poultry rearing: a review. **Antibiotics**, 20, 1010, 2021.

SCHMOURLO, G. *et al.* Screening of antifungal agents using ethanol and bioautography of medicinal and precipitation food plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 15, 563–568, 2005

SHARMA K.K., KAPOOR M., KUHAD R.C. In vivo enzymatic digestion, in vitro xylanase digestion, metabolic analogues, surfactants and polyethylene glycol ameliorate laccase production from *Ganoderma* sp. **Letters in Applied Microbiology**, 41:24–31, 2005.

SEONG, M.A. *et al.* Oral administration of fermented wild ginseng ameliorates DSS-induced acute colitis by inhibiting NF-kappaB signaling and protects intestinal epithelial barrier. **BMB Reports**, 48, 419–425, 2015.

SHEIKH, A. D. I. L. *et al.* Response of broiler chicken to dietary supplementation of organic acids. **Journal of Central European Agriculture**, 12:489–508, 2011.

SINGH, S.; SINGH, R.P. In vitro methods of assay of antioxidants: an overview. **Food Reviews International**, 24, 392-415, 2008.

SAS - Statistical Analysis System, 2000. SAS user's guide: statistics. Version 8, 2.ed. Cary: SAS Institute, (CD-ROM), USA.

STASTNÍK *et al.* Caraway (*Carum carvi* L.) in fast-growing and slow-growing broiler chickens' diets and its effect on performance, digestive tract morphology and blood biochemical profile. **Poultry Science**, 101:101980, 2022.

STURKIE, P. D. **Avinan Physiology**. 4^a Ed. Springer-Verlag. New York. 1986. 516p.

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**, 6:45, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5^a Porto Alegre: Artmed, 2013.

TESSARI, E.N.C., *et al.* Hematological parameters of broiler chick fed rations containing aflatoxin B1 and fumonisina B1. **Ciência Rural**, 36, 924-929, 2006.

TREVISAN, M. T. S. *et al.* Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, 44, 188–197, 2006.

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

UPADHYAY, V. *et al.* Determination of mycophenolic acid in human plasma by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 4, 205–216, 2014.

VENUGOPAL, M., *et al.* Anacardic acid-mediated regulation of osteoblast differentiation involves mitigation of inflammasome activation pathways. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 476, 819-829, 2021.

WAN, M. L. Y., FORSYTHE, S. J., EL-NEZAMI, H. Probiotics interaction with foodborne pathogens: a potential alternative to antibiotics and future challenges. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 59:3320–3333, 2019.

WANG, R.H., *et al.* Effect of acute heat stress and slaughter processing on poultry meat quality and postmortem carbohydrate metabolism. **Poultry Science**, 96, 738-746, 2017.

WATTANACHANT, S. *et al.* Composition, color, and texture of Thai indigenous and broiler chicken muscles. **Poultry Science**, 83, 123-128, 2004.

WAUQUIER, F., *et al.* Oxidative stress in bone remodelling and disease. **Trends in Molecular Medicine**, 15, 468–477, 2009.

WINDISCH, W. *et al.* Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, 86 (E. Suppl.), E140–E148, 2008.

WASEEM, M. M.; MUKHTAR N., REHMAN, Z. Use of Organic Acids as Potential Feed Additives in Poultry Production. **Journal World's Poultry Research**, 6 :105–116, 2016.

WEIMER, L. *et al.* Differences in carcass composition and meat quality of conventional and slow-growing broiler chickens raised at 2 stocking densities, **Poultry Science**, p. 101833, 2022.

WQS. Selo Livre de Antibióticos QIMA/WQS <https://wqs.com.br/food-certification/livre-de-antibioticos>. Acesso 14/03/2023

XING, T., *et al.* Stress effects on meat quality: a mechanistic perspective. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 18, 380-401, 2019.

XUE, G. D. *et al.* Impact of a *Macleaya cordata*-derived alkaloid extract on necrotic enteritis in broilers. **Poultry Science**, 96:3581–3585, 2017.

YAMILE, A. *et al.* Buffering capacity of protein-based model food systems in the context of gastric digestion. **Food & Function**, 2019.

YAKHKESHI S. *et al.* The effects of comparison of herbal extracts, antibiotic, probiotic and organic acid on serum lipids, immune response, git microbial population, intestinal morphology and performance of broilers. **Journal of Medicinal Plants Research**, 10:80–95, 2011.

YANG, X. *et al.* Impact of essential oils and organic acids on the growth performance, digestive functions and immunity of broiler chickens. **Animal nutrition**, 4, pp. 388-393, 2018.

YANG, X. *et al.* Effects of encapsulated organic acids and essential oils on intestinal barrier, microbial count, and bacterial metabolites in broiler chickens, **Poultry Science**, 98, pp. 2858-2865, 2019.

YESILBAG, D.; I. COLPAN. Effects of organic acid supplemented diets on growth performance, egg production and quality and on serum parameters in laying hens. **Revista de medicina veterinária**, 157:280–284, 2006.

YOUNG, J. F., Ascorbic acid, α -tocopherol and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. **Poultry Science**, 82, 1343–1351, 2003.

ZHANG, C. *et al.* Resveratrol alleviates heat stress-induced impairment of intestinal morphology, microflora, and barrier integrity in broilers. **Poultry Science**, 96, p. 4325-4332, 2017.

ZHANG, L., HANB, Z., GRANATOC, D. Polyphenols in foods: Classification, methods of identification, and nutritional aspects in human health. **Advances in Food and Nutrition Research**, 2021.

ZHANG, J. F. *et al.* Curcumin attenuates heat-stress-induced oxidant damage by simultaneous activation of GSH-related antioxidant enzymes and Nrf2-mediated phase II detoxifying enzyme systems in broiler chickens. **Poultry Science**, 97:1209–1219, 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**, 90, 1720–1727, 2011.

ZHAO, J.S., DENG, W., LIU, H.W. Effects of chlorogenic acid-enriched extract from *Eucommia ulmoides* leaf on performance, meat quality, oxidative stability, and fatty acid profile of meat in heat-stressed broilers. **Poultry Science**, 98, 3040-3049, 2019.

ZUIDHOF, M. J. *et al.* Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. **Poultry Science**, 93 :2970–2982, 2014.