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

**TAYSE BURGER NETO ZANIN** 

AVALIAÇÃO DE DUAS ALTERNATIVAS AOS ANTIBIÓTICOS
CONVENCIONAIS PARA GALINHAS POEDEIRAS

CHAPECÓ 2023

#### **TAYSE BURGER NETO ZANIN**

# AVALIAÇÃO DE DUAS ALTERNATIVAS AOS ANTIBIÓTICOS CONVENCIONAIS PARA GALINHAS POEDEIRAS

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC. Orientadora: Prof. PhD. Lenita de Cássia Moura Stefani

Coorientadora: Prof. Dra. Denise Nunes de Araujo

CHAPECÓ 2023

## Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da Biblioteca Universitária Udesc,

com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Burger Neto Zanin, Tayse

Avaliação de duas alternativas aos antibióticos convencionais para galinhas poedeiras / Tayse Burger Neto Zanin. -- 2023.

59 p.

Orientadora: Lenita de Cássia Moura Stefani Coorientadora: Denise Nunes de Araujo Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2023.

1. Avicultura de Postura . 2. Microbiologia da Casca e Fezes. 3. Melhoradores de Desempenho Alternativos. 4. Perfil lipídico. 5. Peroxidação lipídica. I. de Cássia Moura Stefani , Lenita . II. Nunes de Araujo , Denise. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Titulo.

#### TAYSE BURGER NETO ZANIN

# AVALIAÇÃO DE DUAS ALTERNATIVAS AOS ANTIBIÓTICOS CONVENCIONAIS PARA GALINHAS POEDEIRAS

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Orientadora: Prof. PhD. Lenita de Cássia

Moura Stefani

Coorientadora: Prof. Dra. Denise Nunes de

Araujo

#### **BANCA EXAMINADORA**

#### Membros:



Prof. Lenita de Cássia Moura Stefani, PhD.

Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

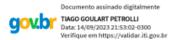
#### Presidente



Prof. Marcel Manente Boiago, Doutor

Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

#### Membro Interno



Prof. Tiago Petrolli, Doutor

Universidade do Oeste de Santa Catarina - UNOESC

Membro Externo

Chapecó, 14 de julho de 2023.

Aos meus amores: Claitson, Bernardo e Antônio, por acreditarem e incentivarem meu sonho.

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao meu maior incentivador e meu parceiro da vida, meu marido, Claitson; aos meus filhos Bernardo e Antônio que me motivam a evoluir; a minha mãe e primeira professora Rozemari pelo exemplo; aos meus irmãos Roberto e Gustavo meus primeiros filhos que muito me ensinaram e ao meu pai (*in memoriam*) que sei que estaria muito feliz com essa conquista.

A professora Dra Sandra Maria Ferraz que com o seu "sim, sim com certeza" me devolveu a vontade e me fez sentir capaz. A minha orientadora professora PhD. Lenita de Cássia Moura Stefani por me conduzir, me tranquilizar e mesmo à distância, estar sempre presente. A professora Dra. Denise Nunes Araujo pela disponibilidade, por me ouvir e tirar minhas dúvidas. Aos professores doutores Aleksandro Schafer da Silva e Miklos Maximiliano Bajay pelo auxílio no projeto. A professora Dra. Cássia Nespolo pelo auxílio na estatística e ao professor Marcel Manente Boiago pela condução do experimento, por sempre estar presente, por tornar o processo tranquilo, meu muito obrigada, pois levo seus ensinamentos e seu exemplo comigo.

Aos amigos que auxiliaram na condução do experimento e nas análises: Antony, Bruno, Jhonatan, João, Canelinha, Letícia, Fabiana, Charline, Alexandre, Suelyn, Yasmim, em especial a Bruna Klein que conduziu o fechamento das análises com chave de ouro. A minha amiga e dupla de experimento: Camila Ceccato. Aos meus amigos Jessica Dilkin, Jéssica Line, Fernanda Picolli e Guilherme Deolindo, obrigada por dividir esse momento comigo. Ao meu braço direito, que esteve presente em todos os momentos, que não mediu esforço para ajudar, Tatiane Esposito, consigo ver a excelente zootecnista que você será.

A empresa Tecphy pelo apoio técnico, financeiro e cedência dos produtos testados. A Universidade do Estado de Santa Catarina, instituição a qual me orgulho em fazer parte; ao Programa de Bolsas de Monitoria de Pós-Graduação (PROMOP/UDESC) pela bolsa; a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

"Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é se não uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota" (Madre Teresa de Calcutá).

#### **RESUMO**

Os melhoradores de desempenho convencionais são antibióticos adicionados na ração dos animais de produção, que podem aumentar a produtividade. Porém, esta prática tem gerado questionamentos pela comunidade científica pois desencadeiam um aumento na proliferação e transmissão de bactérias resistentes. Por isso, alternativas naturais estão sendo avaliadas a fim de manter a eficiência dos animais de produção. O objetivo deste trabalho foi avaliar se dois compostos alternativos à base de fitobióticos, ácidos orgânicos, probiótico e prebióticos quando adicionados na dieta de galinhas poedeiras poderiam impactar o desempenho zootécnico e a qualidade dos ovos. Para isso, 140 galinhas poedeiras, linhagem Isa Brown, foram divididas em quatro grupos: GC - grupo controle (ração basal); TP - tratamento positivo (ração basal + enramicina 10 ppm); TCA-A - tratamento alternativo A (ração basal + composto de fitoativos de orégano e canela, leveduras, manamos e glucanos, pool de bactérias benéficas e minerais orgânicos - 500g/ton de ração); TCA-B tratamento alternativo B (ração basal + composto de fitoativos de orégano e canela associados a um blend de ácidos orgânicos na forma microencapsulada - 250g/ton). Nos resultados de desempenho zootécnico o consumo de ração foi menor nos grupos TCA-A, TCA-B e TP, quando comparado ao grupo GC (P=0,023). Nas avaliações da qualidade externa do ovo os grupos TCA-A, TCA-B e TP apresentaram maior porcentagem de gema que o grupo GC (P=0,042); na cor da gema por leque os grupos TCA-A e TCA-B apresentaram resultados de coloração maiores quando comparados aos grupos TP e GC (P=0,018). Outra variável bastante importante afetada pelos tratamentos foi a unidade Haugh, onde o grupo TCA-B apresentou o maior valor quando comparados aos demais grupos (P≤0,001). O pH de gema e albúmen nos grupos TCA-A, TCA-B e TP apresentaram resultados menores que o grupo GC (P≤0,01). Para a qualidade microbiológica da casca, as contagens de mesófilos aeróbios nos grupos TCA-A e TCA-B foram menores que nos grupos TP e GC (P≤0,01). Já nas fezes, as contagens de coliformes totais foram menores para os grupos TCA-A, TCA-B e TP comparado ao grupo GC (P≤0,01); para os resultados de mesófilos aeróbios os grupos TCA-A e TCA-B apresentaram menores contagens que os grupos GC e TP (P≤0,01). Os tratamentos ainda influenciaram nos valores dos perfis lipídicos do ácido graxo palmítico, heptadecanóico, esteárico, palmitoléico, alinolênico, eicosadienóico e nervônico. Conclui-se que a utilização dos compostos alternativos A e B provocou uma melhora nas características de qualidade interna (unidade haugh, leque colorimétrico) e externa (porcentagem de gema, porcentagem de albúmen) do ovo, reduziu as contagens bacterianas na casca e nas fezes, como também influenciou o perfil lipídico da gema, melhorando assim a saúde das aves e a qualidade geral do produto.

**Palavras-chave:** Avicultura de Postura; Melhoradores de Desempenho Alternativos: Microbiologia da Casca e Fezes; Perfil lipídico; Peroxidação lipídica.

#### **ABSTRACT**

Conventional performance enhancers are antibiotics added to livestock feed as they can increase productivity. However, this practice has raised questions from the scientific community as it can trigger an increase in the proliferation and transmission of resistant bacteria. Therefore, natural alternatives are being evaluated in order to maintain the efficiency of production animals. The objective of this work was to evaluate whether two alternative compounds based on phytobiotics, organic acids, probiotics and prebiotics, when added to the diet of laying hens, could impact zootechnical performance and egg quality. For this, 140 laying hens, lineage Isa Brown, were divided into four groups: control group (CG) - basal diet; positive treatment (TP) - basal diet with addition of enramycin; treatment with alternative compound A (TCA-A) - basal diet with addition of TCA-A and treatment with alternative compound B (TCA-B) - basal diet with addition of TCA-B. In terms of zootechnical performance, feed intake was lower in the TCA-A, TCA-B and TP groups, when compared to the GC group (P=0.023). In evaluating the external quality of the egg, in the yolk percentage variable, the TCA-A and TCA-B groups presented similar results to the TP group and superior to the GC group (P=0.042); in yolk color by fan, the TCA-A and TCA-B groups showed better results when compared to the TP and GC groups (P=0.018). Another very important variable affected by the treatments was the Haugh unit, where the TCA-B group showed better results compared to the other groups (P≤0.001). Yolk and albumen pH in the TCA-A, TCA-B and TP groups showed lower results than the GC group (P≤0.01). For the microbiological quality of the peel, the counts of aerobic mesophiles in the TCA-A and TCA-B groups were lower than in the TP and GC groups (P≤0.01). In the feces, total coliform counts were lower for the TCA-A, TCA-B and TP groups compared to the CG group (P≤0.01); for the results of aerobic mesophiles, the TCA-A and TCA-B groups had lower counts than the GC and TP groups (P≤0.01). Treatment effects for lipid peroxidation and fat amount were not significant (P=0.11; P=0.70, respectively). The treatments also influenced the values of lipid profiles, palmitic, heptadecanoic, stearic, palmitoleic, a-linolenic, eicosadienoic and nervonic acids. It is concluded that the use of alternative compounds A and B improved the internal quality characteristics (haugh unit, colorimetric range) and external quality (yolk percentage, albumen percentage) of the egg, reduced bacterial counts in the shell and feces, but also influenced the lipid profile of the yolk, thus improving the health of the birds and the overall quality of the product.

**Keywords:** Laying Hens; Growth Promoters; Lipid Peroxidation; Lipid Profile; Microbiology of Shells and Feces.

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Composição alimentar da dieta experimental44
Tabela 2 - Desempenho zootécnico de galinhas poedeiras alimentadas com
compostos alternativos45
Tabela 3 - Qualidade externa do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com
compostos alternativos45
Tabela 4 - Qualidade interna do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com
compostos alternativos46
Tabela 5 - Contagem microbiológica na casca do ovo de galinhas poedeiras
alimentadas com compostos alternativos46
Tabela 6 - Contagem microbiológica das excretas de galinhas poedeiras alimentadas
com compostos alternativos47
Tabela 7 - Peroxidação lipídica através da substância reativa ao ácido tiobarbitúrico na
gema do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com compostos alternativos (mg
TMP/kg)47
Tabela 8 - Quantidade de gordura na gema do ovo de galinhas poedeiras alimentadas
com compostos alternativos (porcentagem)47
Tabela 9 - Perfil lipídico de ácidos graxos da gema do ovo de galinhas poedeiras
alimentadas com compostos alternativos48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABAPA Associação Brasileira de Proteína Animal

AG Altura da Gema

AGS Ácido Graxo Saturado
AGI Ácido Graxo Insaturado

ACIO CIAXO INSALUIAGO

AO Ácidos Orgânicos

ATP Adenosina Trifosfato

CA/kg Conversão Alimentar por quilograma

CA/dz Conversão Alimentar por dúzia

CEUA Comissão de Ética para o Uso de Animais

CR Consumo de Ração

DG Diâmetro de Gema

DIC Delineamento Inteiramente Casualizado

DNA Ácido Desoxirribonucleico

EC Espessura da Casca

ECDC Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças

EDTA Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

EFSA Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

EUA Estados Unidos da América

FAME Ácido Graxo Metil Ésteres

FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations

FDA Food and Drug Administration

FIESP Federação das Indústrias do Estado de São Paulo

FOS Frutooligossacarídeos

g Grama

GC Grupo Controle

GE Gravidade Específica

GOS Galacto-oligossacarídeos

HU Unidade Haugh

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

kg Quilograma

m Metro

MAPA Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

mL Mililitros

MO Massa dos ovos

MOS Mananoligossacarídeos

OCDE Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

OMS Organização Mundial da Saúde

PO Peso dos ovos

QS Quorum Sensing

RC Resistência da casca

S Sul

TBARS Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TBA Ácido Tiobarbitúrico

TCA Ácido Tricloroacético

TCA-A Tratamento Composto Alternativo A

TCA-B Tratamento Composto Alternativo B

TGI Trato Gastrointestinal

TP Tratamento Positivo

TMP Tetrametoxipropano

Ton Tonelada

UDESC Universidade do Estado de Santa Catarina

W Norte

YI Índice Gema

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇAO	15	
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17	
2.1	PANORAMA DA CADEIA PRODUTIVA DE OVOS NO BRASIL	17	
2.2	ANTIMICROBIANOS COMO MELHORADORES DE DESEMPENH	IO E A	
	RESISTÊNCIA BACTERIANA	18	
2.3	PRODUTOS ALTERNATIVOS AO USO DOS ANTIMICROBIANOS	20	
2.3.1	Aditivos fitogênicos	20	
2.3.1.1	Fitoativos de orégano	21	
2.3.1.2	Fitoativos de canela	22	
2.3.2	Ácidos orgânicos	23	
2.3.3	Probióticos	24	
2.3.4	Prebióticos	26	
3	ARTIGO 1: COMPOSTOS COMERCIAIS: EFEITO NO DESEMPENHO		
	ZOOTÉCNICO DE GALINHAS POEDEIRAS E NA QUALIDADE FÍ	SICA E	
	MICROBIOLÓGICA DOS OVOS	28	
3.1	RESUMO	28	
3.2	INTRODUÇÃO	29	
3.3	MATERIAIS E MÉTODOS	30	
3.3.1	Instalações	30	
3.3.2	Animais e tratamentos	30	
3.3.3	Desempenho zootécnico	31	
3.3.4	Qualidade física do ovo	31	
3.3.5	Qualidade microbiológica dos ovos	32	
3.3.6	Análise microbiológica das fezes	33	
3.3.7	Peroxidação lipídica	33	
3.3.8	Análise de perfil lipídico e quantidade de gordura	33	
3.3.9	Análise estatística	34	
3.4	RESULTADOS	34	
3.4.1	Desempenho zootécnico	34	
3.4.2	Qualidade externa do ovo	34	
3.4.3	Qualidade interna do ovo	35	
3.4.4	Qualidade microbiológica dos ovos	35	

3.4.5	Qualidade microbiológica das fezes	35
3.4.6	Peroxidação lipídica	36
3.4.7	Quantidade de gordura	36
3.4.8	Perfil lípidico	36
3.5	DISCUSSÃO	37
3.6	CONCLUSÃO	43
3.7	TABELAS	44
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
	REFERÊNCIAS	51
	ANEXO A - COMPROVANTE DO CEUA	59

## INTRODUÇÃO

A avicultura de postura brasileira tem se expandido a cada ano e a produção de ovos tem sido crescente diante do excelente valor nutricional do produto, o custo mais baixo quando comparado com as demais proteínas de origem animal e a escassez em algumas partes do mundo (CHILANTI; ISOLAN, 2018). A produção de ovos no Brasil no ano de 2022 chegou a 52 bilhões de unidades com um consumo de 241 unidades por pessoa. Para o mercado externo há uma prospecção de aumento em 10% e até 2028 estima-se um crescimento de 44% na produção (ABPA, 2023).

A produção brasileira de ovos é baseada, em sua maioria, nos sistemas intensivos de produção, modelo no qual as aves são alojadas em gaiolas dentro dos galpões durante toda a vida produtiva. Esses sistemas, por sua vez, são criticados quanto a sua sustentabilidade, em função dos impactos negativos que podem causar tanto ao ambiente, quanto aos animais. A produção intensiva de galinhas poedeiras resulta em um ambiente estressante por questões de manejo zootécnico e uso intenso de antimicrobianos na alimentação animal (MACIEL et al., 2023).

Os melhoradores de desempenho utilizados na avicultura desempenham um importante papel no aumento da produtividade, otimizando as principais características zootécnica desejáveis. Porém, no caso dos antimicrobianos, principais substâncias utilizadas para esse fim, em doses subclínicas tem gerado grande questionamento em relação a segurança, pois pode desencadear um aumento na transmissão e proliferação de bactérias resistentes e multirresistentes a estes fármacos (BRENES; ROURA 2010). É preciso respeitar o período de carência determinado para cada medicamento, para que seja eliminado por completo do organismo do animal. Porém, em galinhas poedeiras seu uso é contínuo com a possibilidade de ocorrência de resíduos, sem a possibilidade de garantir o consumo seguro (MOHAMED et al., 2022).

Alternativas aos antimicrobianos estão sendo estudadas com o objetivo de diminuir custos e maximizar a eficiência de produção. Alguns exemplos de alternativas aos antimicrobianos como agentes melhoradores de desempenho incluem: aditivos fitogênicos, ácidos orgânicos, enzimas, nanopartículas, imunomoduladores, probióticos, prébioticos, bacteriófagos e bacteriocinas. Estes produtos alternativos

devem ser atóxicos para os animais, totalmente excretados do organismo sem deixar resíduos nos ovos, não poluir o ambiente, palatáveis, facilmente degradáveis e com biodisponibilidade estável. Além disso, obviamente, devem causar efeitos similares aos melhoradores de desempenho como melhorar a eficiência da dieta. Eles também devem aumentar a carga microbiana benéfica e reduzir as cargas microbianas prejudiciais e manter a saúde pública (MOHAMED et al., 2022). O uso inapropriado dos antibióticos, particularmente a sua utilização excessiva, tem aumentado a frequência de doenças infecciosas estabelecidas e emergentes em consequência da ineficácia dos antibióticos, e ainda impacta no custo elevado para a sociedade e consequências graves para a saúde, como a diminuição da eficácia dos tratamentos, o prolongamento das doenças, o crescimento do número de hospitalizações e o aumento da morbidade e mortalidade (LOUREIRO et al., 2016).

Neste contexto, este estudo objetivou avaliar dois compostos alternativos, o tratamento composto alternativo A, que apresenta na sua composição fitoativos de canela, orégano, leveduras, manamos e glucanos, *pool* de bactérias benéficas e minerais orgânicos e o tratamento composto alternativo B, que apresenta na sua composição fitoativos de canela e orégano e um *blend* de ácidos orgânicos, como substitutos ao uso dos antibióticos na produção de ovos comerciais não férteis quanto ao desempenho zootécnico de galinhas poedeiras criadas em gaiolas, a qualidade físico-química e microbiológica dos ovos, e a microbiologia da casca dos ovos e das excretas das aves. A principal hipótese é que o fornecimento dos compostos alternativos via ração, melhorariam os parâmetros avaliados frente ao grupo controle (não tratado com antibiótico convencional, a enramicina) com resultados similares ou melhores que os animais do tratamento positivo com enramicina, podendo assim ser recomendados como alternativas naturais para o animal, a saúde humana e o meio ambiente, sem contribuir com a problemática da resistência bacteriana.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 PANORAMA DA CADEIA PRODUTIVA DE OVOS NO BRASIL

A avicultura de postura brasileira tem se expandido a cada ano e a produção de ovos tem sido crescente, com a divulgação do excelente valor nutricional do produto, o valor mais baixo quando comparado com as demais proteínas e a escassez em algumas partes do mundo (CHILANTI; ISOLAN, 2018). Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2023) a produção brasileira de ovos em 2022 é de 52 bilhões de unidades, com valor bruto de produção de 20,21 bilhões de reais e o consumo per capita de 241 unidades. As exportações devem ter avanço de 10% entre 2022 e 2023, para 11 mil toneladas, devido à escassez em outras partes do mundo. Mas como 99,56% da produção brasileira de ovos é destinada ao mercado interno, o aumento da exportação terá pouco efeito sobre os preços internos. Segundo a Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (FIESP, 2018), as projeções de crescimento para a produção de ovos no país até 2028 é de 44%. O estado do Mato Grosso aparece como maior exportador de ovos, com 29,13%, em segundo lugar o estado do Rio Grande do Sul, com 29,02%, seguido por Minas Gerais com 19,33% e São Paulo com 12,20% (ABPA, 2023). Os principais importadores de ovos do Brasil são os países do oriente médio com 64,41%, seguido dos países da américa em geral com 16%, em terceiro lugar, os países da ásia com 14,49%, sendo que as demais regiões importadoras com números com números menos expressivos (ABPA, 2023).

O ovo é considerado um dos alimentos mais completos, pois além de ser um alimento natural e uma fonte de proteína de baixo custo, contém também gorduras, vitaminas, minerais e reduzida concentração calórica, podendo ainda ser denominado como um alimento nutracêutico, pois é uma importante reserva de nutrientes favoráveis à saúde e preventivos de doenças, com propriedades antibacteriana, antiviral e moduladora do sistema imunológico (LIMA, 2021).

A produção brasileira de ovos é baseada, em sua maioria, nos sistemas intensivos de produção, modelo no qual as aves são alojadas em gaiolas dentro dos galpões durante toda a sua vida produtiva. Esse sistema é amplamente discutido quanto a sua sustentabilidade, em função dos efeitos negativos que podem causar ao ambiente, mas principalmente a saúde geral e ao bem-estar dos animais. A produção intensiva de galinhas poedeiras resulta em um ambiente estressante para os animais

que precisam de manejo zootécnico e uso intenso de antimicrobianos na alimentação animal (MACIEL et al., 2023).

# 2.2 ANTIMICROBIANOS COMO MELHORADORES DE DESEMPENHO E A RESISTÊNCIA BACTERIANA

O Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2017) descreve que, os antimicrobianos melhoradores de desempenho são substâncias administradas em produtos destinados à alimentação animal com a finalidade de melhorar a taxa de crescimento e/ou eficiência da conversão alimentar. As evidências da eficácia do uso de antibióticos em baixas dosagens como melhoradores de desempenho foram aparecendo em vários experimentos, de tal forma que em 1951 o *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA aprovou o seu uso na alimentação animal sem prescrição veterinária (RIBEIRO et al., 2018).

O mecanismo de ação dos antibióticos, de maneira geral, pode ser descrito pela atuação no lúmen intestinal, inibindo microrganismos responsáveis por infecções subclínicas e reduzindo inflamações no epitélio do intestino, através da diminuição do número de bactérias patogênicas, bem como sua adesão à mucosa intestinal. Com a maior integridade da parede intestinal ocorre maior absorção dos nutrientes, assim como menor gasto energético para repor as células danificadas pelos agentes patogênicos (REIS; VIEITES, 2019).

Os melhoradores de desempenho utilizados na avicultura desempenham um importante papel no aumento da produtividade, pois otimizam as principais características zootécnicas desejáveis. Porém, a utilização destes produtos em doses subclínicas tem gerado grande questionamento em relação a segurança, pois pode desencadear um aumento na transmissão e proliferação de bactérias resistentes e multirresistentes a estes fármacos (BRENES; ROURA 2010).

A resistência antimicrobiana refere-se à capacidade dos microrganismos de resistirem aos tratamentos com antimicrobianos (EFSA, 2020). Considera-se que uma cepa bacteriana é resistente a um determinado antibiótico, quando este, não tem ação de matar a bactéria ou impedir sua multiplicação e esse mecanismo ocorre naturalmente, de maneira seletiva. As bactérias são microrganismos incrivelmente resilientes, ou seja, têm uma grande capacidade de adaptação quando surgem alterações no ambiente, tal como a presença de antibióticos (WHO, 2020). O uso

excessivo e inapropriado destes medicamentos acelera a emergência e disseminação de bactérias resistentes (ECDC, 2020).

A resistência bacteriana pode ser intrínseca, ou também chamada de natural, que é aquela que faz parte das características naturais, fenotípicas do microrganismo, ou que fazem parte da sua herança genética; ou ainda, adquirida que ocorre quando há o aparecimento de resistência em uma espécie bacteriana anteriormente sensível à droga em questão. Este último é transmitido verticalmente para células filhas na reprodução. A resistência adquirida por transferência horizontal de genes é mais importante do ponto de vista epidemiológico, porque ocorre com bactérias patogênicas e comensais e favorece o desenvolvimento de bactérias multirresistentes aos antibióticos (PHILLIPS, 2003).

O uso de antimicrobianos pode exercer uma pressão seletiva sob uma população microbiana, aumentando a população de microrganismos resistentes (MENKEM et al., 2019). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que em 2050 serão cerca de 10 milhões de mortes no mundo, caso nenhuma providência seja tomada com o uso desenfreado dos antibióticos. A resistência antimicrobiana é uma das três ameaças mais preocupantes do século XXI. Por ano morrem cerca de 33000 pessoas na Europa com infecções não tratáveis devido à ocorrência de cepas bacterianas patogênicas multirresistentes; principalmente provocadas por bactérias gram negativas, nomeadamente da Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae е Moraxellaceae (LERMINIAUX; CAMERON, 2019). Tendo em vista este cenário, os consumidores preferem produtos de frangos, criados sem, ou com o uso mínimo, de aditivos químicos na ração, entre eles os melhoradores de desempenho naturais (CARDINAL et al., 2019).

Em 2006, a União Europeia, passou a proibir por completo o uso de A melhoradores de desempenho na produção de animais (EFSA, 2020). Nos Estados Unidos a restrição ao uso de antibóticos de importância humana, que é regulamentada pelo FDA, vem ocorrendo seguindo as tendências europeias (FDA, 2013). A restrição do uso de antibióticos, no Brasil, vem sendo discutida pela cadeia produtiva e comunidade científica, e em 2018 o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) proibiu o uso do sulfato de colistina como melhorador de desempenho para produção de aves por se tratar de um antibiótico utilizado em humanos, pois há correlação para a seleção de cepas altamente resistentes em infecções hospitalares e posteriormente houve a proibição de tilosina (STRAPAZZON, 2021).

As normativas brasileiras seguem as tendências mundiais de preocupação com a seleção de bactérias resistentes as várias moléculas antimicrobianas, quando utilizados como melhoradores de desempenho ou aditivos melhoradores de desempenho em animais, e está seguindo instituições como a Organização Mundial da Saúde (OMS), Oganização Mundial de Saúde Animal (OIE), Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e o Codex Alimentarius. Com isso, a tendência do banimento dos antimicrobianos na ração dos animais é mundial, então, tornaram-se necessário o conhecimento e a criação de meios de manipulação da microbiota intestinal, para compensar as perdas de produtividade com a retirada dos melhoradores de desempenho da alimentação (STRAPAZZON, 2021).

#### 2.3 PRODUTOS ALTERNATIVOS AO USO DOS ANTIMICROBIANOS

A retirada dos melhoradores de desempenho gera impacto negativo sobre a saúde animal, o aumento da mortalidade e consequentemente, menor lucratividade para o setor. Com isso, algumas alternativas ao uso dos antimicrobianos estão sendo estudadas para que esses possam ser substituídos (SANTANA et al., 2011.)

Podem ser utilizados como alternativa aos melhoradores de desempenho os aditivos fitogênicos, ácidos orgânicos, enzimas, nanopartículas, imunomoduladores, probióticos, prébioticos, bacteriófagos e bacteriocinas. Entre as principais características desejadas são: serem atóxicos para os animais, totalmente excretados do organismo sem deixar resíduos, não poluir o ambiente, facilmente degradáveis e com biodisponibilidade estável. Além disso, obviamente, devem causar efeitos similares aos melhoradores de desempenho convencionais, como melhorar a eficiência da dieta e a produtividade de modo geral. Eles também devem aumentar a carga microbiana benéfica e reduzir as cargas microbianas prejudiciais e manter a saúde pública (MOHAMED et al., 2022).

#### 2.3.1 Aditivos fitogênicos

Os aditivos fitogênicos podem ser classificados em ervas (produto da floração), plantas (partes inteiras, raiz, folhas, cascas), óleos essenciais (extratos hidrodestilado de compostos voláteis de plantas) e óleo-resinas (extratos baseados em solventes não aquosos ou extração direta) (PASQUALI; PIMENTA, 2014).

A composição e concentrações dos princípios ativos destes aditivos variam de acordo com a parte da planta (folha, semente ou raiz), tipo de solo, época de colheita, condição genética da própria planta e ainda forma de armazenamento e o processamento de extração (GADDE et al., 2017).

Os aditivos fitogênicos podem ser incluídos nas rações para melhoria da qualidade e segurança dos alimentos, bem como para promoção da saúde e bemestar dos animais. Atuam como imunomoduladores, antioxidantes, neste caso sendo capaz de diminuir a peroxidação lipídica, tem ação antimicrobiana e agem como estimulante digestivo pelo aumento da produção de enzimas como mucina, amilase, lipase, protease e tripsina (CHRISTOFOLI et al., 2020; SHARMA et al., 2020).

Os compostos fitogênicos mais utilizados na produção avícola são oriundos de plantas: orégano, canela, alho, tomilho, pimenta, hortelã, cravo, sálvia e alecrim, estes compostos se originam de moléculas bioativas como o carvacrol, timol, cineol, linalol, anetol, alicina, capsaicina, alilisotiocinato e piperina (FRANZ et al., 2020).

## 2.3.1.1 Fitoativos de orégano

O orégano pertence à família *Lamiaceae*, e é uma planta medicinal aromática e nativa da Europa, que possui fontes de vitamina C. Na sua composição química contém o carvacrol, timol, p-cimeno e γ-terpineno que são terpenóides com efeito antifúngico, antimicrobiano, antiparasitário e antioxidante, que através da presença do grupo hidroxila nos compostos fenólicos, inibem a peroxidase lipídica, protegendo o DNA (CASTRONOVO et al., 2020). O timol e o carvacrol são os compostos mais ativos do orégano e podem aumentar a atividade das enzimas digestivas e a capacidade de absorção de nutrientes (PASQUALI; PIMENTA, 2014).

O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare L*.) é considerado muito eficaz para inibição de bactérias Gram negativas como a Salmonella *Typhimurium*, *E. coli*, *Klebsiella pneumonie*, *Yersinea enterocolitica*, *Enterobacter cloacae* e gram-positivas como *Staphylococus aureus*, *S. epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens* (SILVA et al., 2020).

A camada externa da membrana bacteriana é composta por ácidos graxos, e pode ser danificada pelos compostos voláteis com caráter lipofílico presentes no timol e carvacrol. Este dano aumenta a permeabilidade da membrana, levando a lise

celular, impedindo que as bactérias maléficas sobrevivam em nível intestinal (GHOLAMI-AHANGARAN et al., 2020).

Alguns estudos têm indicado a eficiência destes fitoativos, para a metabolização dos nutrientes, aumentando a energia metabolizável, melhores efeitos sobre a resposta enzimática antioxidante intestinal e sérica, protegendo as células contra os radicais livres (FACCHI et al., 2023). A suplementação dietética de galinhas poedeiras com OE de orégano, apresentou resultados eficientes na melhoria do desempenho dos animais e ainda diminuiu a conversão alimentar, por talvez influenciar nas modulações seletivas das comunidades microbianas de ceco, como relatado por GAO et al. (2022).

#### 2.3.1.2 Fitoativos de canela

A canela (*Cinnamomum zeylanicum*) é uma planta que pertence à família *Laureaceae*, e no Brasil existem 12 espécies localizadas na Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica, com grande valor econômico e considerada um recurso fitobiótico importante (CASTRO et al., 2020). As principais espécies são *C. verum*, *C. cassia*, *C. burmannii e C. zeylanicum*, porém, o *C. verum* é considerada a canela verdadeira (SINGH, 2020), sendo que esta possui propriedades anti-inflamatórias, antifúngicas, antioxidantes e antimicrobianas no organismo das aves (ZHANG et al., 2019).

Os principais compostos bioativos da canela são o cinamaldeído e o eugenol, presentes na casca, folha e nos óleos essenciais. Sua diversidade de propriedades medicinais é conferida principalmente ao composto cinamaldeído, que contém um grupo funcional aldeído (-CHO) com ação farmacológica. Esse composto doa um átomo de hidrogênio para os radicais livres e previne o estresse oxidativo e os distúrbios associados (SINGH et al., 2020).

A canela e os produtos decorrentes da planta podem funcionar como estimulantes hepáticos, aumentar a secreção biliar, remover toxinas e regular a hidratação. Possui aspectos nutricionais positivos sobre a curva de crescimento, digestão, absorção, atividade da microbiota intestinal, imunidade, bem como a melhor utilização da alimentação e saúde das aves (GHANIMA et al., 2020). Esses efeitos foram observados em codornas poedeiras que receberam suplentação de canela como aditivo natural, onde melhorou a taxa de postura e a conversão alimentar e além disso, as aves apresentaram melhores parâmetros séricos sanguíneos, perfil lipídico

da gema de ovo e resposta imune quando comparado as aves do grupo controle (DOSOKY et al.; 2021).

## 2.3.2 Ácidos orgânicos

A utilização de ácidos orgânicos (AOs) tem se mostrado uma alternativa viável e eficiente para o controle de alguns patógenos e obtenção de melhorias produtivas, podendo ser utilizado como fonte alternativa para substituir os melhoradores de desempenho (YANG et al., 2018). Quando associados com nutrição adequada, manejo e medidas de biosseguridade favorecem características benéficas, ou seja, aumentam a digestão de proteínas, levando a uma melhor taxa de conversão alimentar e ainda estimulam a imunidade, melhoram a absorção de minerais no intestino que, consequente, ocasiona um aporte no desempenho do animal (AL-MUTAIRI et al., 2020). Os AOs com atividade antimicrobiana específica são ácidos de cadeia curta e contém de 1 a 7 átomos de carbono (C1-C7) amplamente distribuídos na natureza como constituintes normais de plantas ou de tecidos de origem animal. Os produtos como fonte de AOs podem ser produzidos comercialmente por diferentes processos, principalmente de duas formas, pela síntese química, onde é produzido o ácido fórmico, acético, propiônico, sórbico e o fumárico, que promovem a hidrólise da biomassa ou oxidação do produto químico, ou ainda podem serem produzidos por fermentação microbiana realizada por bactérias, leveduras e fungos como o ácido lático e cítrico (KANG et al., 2021).

A principal característica química dos AOs é a presença do grupo funcional carboxílico ligado a um hidrogênio ou a uma cadeia linear de átomos de carbono, havendo diferenças entre eles na saturação da referida cadeia (ÁNGEL-ISAZA; SALGADO, 2019).

A atividade de inibição do crescimento microbiano é explicada pela capacidade que eles têm de atravessar a membrana, dissociando-se no interior da célula e acidificando o citoplasma. Assim, ácidos não dissociados podem se difundir através da membrana de bactérias lipofílicas e interromper as reações enzimáticas e o sistema de transporte (GUNAL et al., 2006; WOONG et al., 2015). Outro modo de ação dos AOs está associado a diminuição do pH nas dietas e subsequente redução do pH no trato gastrointestinal, melhorando a utilização de nutrientes e inibindo o crescimento bacteriano patogênico (HAJATI, 2018).

Alguns AOs possuem revestimentos, que aumentam sua eficiência e possibilitam a proteção e liberação do seu princípio ativo somente no intestino dos animais. Apesar dos ácidos orgânicos não dissociados poderem atravessar a membrana, e serem absorvidos pelas primeiras porções do intestino, a microencapsulação pode garantir a chegada até o final do intestino, sendo absorvido ao longo de todo o trato intestinal (SILVA et al., 2017).

Nos resultados encontrados por Han et al. (2019), a inclusão de AOs em associação com OEs encapsulados, cujo os principais componentes utilizados foram o timol, ácido sórbico e ácido fumárico, mostraram efeito significativo na morfologia do intestino posterior, sendo que o produto utilizado foi revestido para realizar a proteção da atividade biológica e liberação sustentada. Características de qualidade do ovo também foram afetadas, como a coloração da gema, gerado pelo melhor aproveitamento dos carotenoides.

#### 2.3.3 Probióticos

O mercado de probióticos atingiu US\$ 80 milhões em 2018, com perspectiva de crescimento até US\$ 125 milhões em 2025, estimativa essa para o mercado mundial (JHA et al., 2020). A definição de probiótico baseou-se na premissa que microrganismos vivos são essenciais para o desenvolvimento saudável do intestino. O termo "probiótico" resultou de um fenômeno observado entre microrganismos cocultivados, onde um deles produziu efeito como promotor de crescimento, ou seja, substâncias que estimularam o crescimento de outros microrganismos (TANNOCK, 1997; LAMBO et al., 2021). Um organismo probiótico ideal deverá produzir ácido láctico, não ser patogênico, fazer adesão eficaz ao revestimento intestinal, ter tempo de geração curto, apresentar condições de processamento robusto para sobreviver, ser geneticamente estável e possuir propriedades anti-genotóxica (PANDEY et al., 2015).

Os microrganismos mais usados como probióticos são principalmente bactérias Gram-positivas do grupo de Bifidobacterium e bactérias produtoras de ácido láctico (BAL), os gêneros *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e *Leuconostocos*, e *Bacillus*. Além de bactérias, fungos e cepas de leveduras, principalmente das espécies de *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces* também podem ser usadas como probióticos (SANDERS et al., 2019).

As leveduras têm revelado um grande potencial para utilização como probióticos. O teor rico em proteínas, vitamina B, minerais e variados compostos imunoestimulantes são algumas razões para esse interesse. Em geral, exibem a vantagem de não-sensibilidade aos antibióticos e uma boa tolerância às condições de processamento industrial. A levedura *Saccharomyces boulardii* é a mais utilizada como probiótico e apresenta um excelente perfil de segurança. Outras leveduras como *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Schizosaccharomyces* e *Candida* também tem sido identificada e reconhecida pelo seu potencial como probióticos (PEREIRA et al., 2018).

Os probióticos, de modo geral, exercem os seus benefícios através de quatro diferentes mecanismos de ação: interação com o microbiota intestinal, através da produção de vários compostos com características antimicrobianas, atuam ainda no reforço da barreira epitelial intestinal, na modulação do sistema imunológico, influenciando em outros órgãos do organismo e produzindo neurotransmissores (SANDERS et al., 2019).

Os probióticos também promovem a competição entre as bactérias intestinais, por nutrientes específicos, e isso acarreta a carência nutricional no lúmen intestinal para as bactérias indesejáveis, prejudicando a manutenção e o estabelecimento das mesmas, neste ambiente. Ainda pode ocorrer de as bactérias probióticas intestinais utilizarem a energia qualitativamente melhor em relação as patogênicas (SANDERS et al., 2019).

Algumas bactérias probióticas específicas possuem propriedades antimicrobianas, geralmente associadas à secreção de peptídeos ou moléculas com capacidade bacteriostática ou bactericida, que favorecem o processo de exclusão competitiva, impedindo a fixação de patógenos no lúmen intestinal. Essas moléculas podem proteger o hospedeiro contra bactérias infecciosas e favorecer a sobrevivência de bactérias comensais através da lesão direta ou indireta dos microrganismos patogênicos (LAFATA et al., 2018).

Ao incluir na alimentação de galinhas poedeiras, *Lactobacillus salivarius* e *L. crispatus*, LV et al. (2022) observaram efeito positivo nos resultados da massa de ovos, como também da altura do albumén e no valor da unidade Haugh. Ainda com a suplementação fermentada de *L. salivarius* houve melhora da saúde e morfologia intestinal, alterando a composição microbiana benéfica.

#### 2.3.4 Prebióticos

Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2017), os prebióticos não são utilizados por bactérias patogênicas e nem pelas aves, são digeríveis por algumas bactérias benéficas, como as bifidobactérias e bactérias acidoláticas, que estimulam seletivamente o crescimento e a atividade destas e enriquecem a saúde intestinal do seu hospedeiro. Ou seja, a substância, para ser considerada um prebiótico, não pode ser hidrolisada no trato gastrointestinal, e deve ter ação seletiva somente para um limitado número de bactérias comensais benéficas, as quais terão crescimento e metabolismo estimulados, alterando favoravelmente ao microbioma intestinal (REIS; VIEITES, 2019).

Os prebióticos são representados por um conjunto limitado de carboidratos e compostos como frutooligossacarídeos (FOS), galactooligossacarídeos (GOS) e mananolonossacarídeos (MOS), sendo esses os mais utilizados em animais e pesquisas de aves. Os FOS e GOS possuem mecanismos similares de atuação, servindo de substratos para as bactérias benéficas, favorecendo seu desenvolvimento em detrimento às bactérias patogênicas. São encontrados em plantas e vegetais, e as formas mais comuns comercialmente são: fruto-oligossacarídeos, isomaltooligossacarídeos, galacto-oligossacarídeos, transgalacto-oligossacarídeos, inulina e oligofrutose. Os MOS são derivados de parede celular de levedura Saccharomyces cerevisae, que geralmente estão associados às β-glucanas. São compostos pela camada mais externa da parede celular da levedura, enquanto as β-glucanas formam a camada intermediária. O efeito das β-glucanas está diretamente ligado ao tipo de ligações (β-1,3; 1,4 ou 1,6). Há uma grande quantidade de macrófagos presentes na mucosa intestinal, e estes reconhecem as ligações 1,3 e 1,6 das ß-glucanas da parede celular da levedura, iniciando então uma reação em cadeia no sistema imune inato, aumentando a imunidade das aves contra agentes infecciosos e auxiliando na resistência à infecção (RICKE, 2018).

Esses compostos influenciam no desempenho zootécnico, na diminuição da mortalidade e morbidade das aves, e aumentam a resistência à colonização por patógenos (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003). O uso de prebióticos pode estimular, de forma indireta, a resposta imune e reduzir o efeito de estresse em poedeiras (TANG et al., 2017), pois atrai células e outros componentes imunológicos

para o trato intestinal, aumentando a barreira contra antígenos na mucosa (SHEORAN et al., 2018).

Com a utilização de frutooligossacarídeos (FOS) na dieta de galinhas poedeiras, Obianwuna et al, (2022) obtiveram resultados na melhoria do desempenho e na qualidade dos ovos, com relação a massa do ovo, espessura da casca, unidades Haugh, teor de albúmen espesso e altura. O FOS manteve ainda o estado fisiológico evidenciado pela melhora da capacidade antioxidante, da função imunológica, digestibilidade de aminoácidos e morfologia intestinal. Além disso, a utilização deste prebiótico não apresentou efeito adverso sobre as poedeiras. Isso fornece evidências de que esta substância poderia substituir os antibióticos na produção de ovos e na promoção do estado de saúde dos animais.

## 3 ARTIGO: AVALIAÇÃO DE FITOBIÓTICOS, PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E ÁCIDOS ORGÂNICOS COMO ALTERNATIVA AOS ANTIBIÓTICOS CONVENCIONAIS PARA GALINHAS POEDEIRAS

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de artigo a ser submetido para a Revista Brasileira de Zootecnia.

#### 3.1 RESUMO

O uso de antibióticos como melhoradores de desempenho convencionais tem sido bastante questionado pela comunidade científica, pois pode desencadear um aumento da proliferação e transmissão de bactérias resistentes, causando problemas na saúde humana e veterinária. Compostos alternativos estão sendo analisados a fim de manter a eficiência produtiva. O objetivo deste trabalho foi avaliar se dois compostos alternativos à base de fitobióticos, ácidos orgânicos, probiótico e prebióticos, quando adicionados na dieta de galinhas poedeiras, impactariam no desempenho zootécnico e na qualidade dos ovos. Para isso, 140 galinhas poedeiras, linhagem Isa Brown, foram divididas em quatro grupos: grupo controle (GC), tratamento positivo (TP), tratamento com composto alternativo A (TCA-A) e tratamento com composto alternativo B (TCA-B). Nos resultados de desempenho zootécnico o consumo de ração foi menor nos grupos TCA-A, TCA-B e TP, quando comparado ao grupo GC (P=0,023). Nas avaliações da qualidade externa do ovo os grupos TCA-A, TCA-B e TP apresentaram maior porcentagem de gema que o grupo GC (P=0,042); na cor da gema por leque os grupos TCA-A e TCA-B apresentaram resultados de coloração maiores quando comparados aos grupos TP e GC (P=0,018). Outra variável bastante importante afetada pelos tratamentos foi a unidade Haugh, onde o grupo TCA-B apresentou o maior valor quando comparados aos demais grupos (P≤0,001). O pH de gema e albúmen nos grupos TCA-A, TCA-B e TP apresentaram resultados menores que o grupo GC (P≤0,01). Para a qualidade microbiológica da casca, as contagens de mesófilos aeróbios nos grupos TCA-A e TCA-B foram menores que nos grupos TP e GC (P≤0,01). Já nas fezes, as contagens de coliformes totais foram menores para os grupos TCA-A, TCA-B e TP comparado ao grupo GC (P≤0,01); para os resultados de mesófilos aeróbios os grupos TCA-A e TCA-B apresentaram

menores contagens que os grupos GC e TP (P≤0,01). Os tratamentos ainda influenciaram nos valores dos perfis lipídicos do ácido graxo palmítico, heptadecanóico, esteárico, palmitoléico, a-linolênico, eicosadienóico e nervônico. Conclui-se que a utilização dos compostos alternativos A e B provocou uma melhora nas características de qualidade interna (unidade Haugh, leque colorimétrico) e externa (porcentagem de gema, porcentagem de albúmen) do ovo, reduziu as contagens bacterianas na casca e nas fezes, como também influenciou o perfil lipídico da gema, melhorando assim a saúde das aves e a qualidade geral do produto.

**Palavras-chave:** Avicultura de Postura; Melhoradores de Desempenho Alternativos; Microbiologia da Casca e Fezes; Perfil lipídico e Peroxidação lipídica.

## 3.2 INTRODUÇÃO

A avicultura de postura brasileira tem se expandido a cada ano e a produção de ovos tem sido crescente (CHILANTI; ISOLAN, 2018), esta é baseada, em sua maioria, nos sistemas intensivos, que resulta em um ambiente estressante para as galinhas que precisam de manejo zootécnico e uso intenso de antimicrobianos melhoradores de desempenho (MACIEL et al., 2023). Estes desempenham um importante papel no aumento da produtividade, otimizando as principais características zootécnica desejáveis. Porém, a utilização em doses subclínicas tem gerado grande questionamento em relação a segurança, pois pode desencadear um aumento na transmissão e proliferação de bactérias resistentes e multirresistentes a (BRENES; ROURA 2010).

Alternativas aos antimicrobianos estão sendo estudadas com o objetivo de diminuir custos e maximizar a eficiência de produção, alguns exemplos de alternativas aos antimicrobianos como agentes melhoradores de desempenho incluem: aditivos fitogênicos, ácidos orgânicos, probióticos e prébioticos. Estes produtos alternativos devem ser atóxicos para os animais, totalmente excretados do organismo sem deixar resíduos, não poluir o ambiente, facilmente degradáveis e com biodisponibilidade estável. Além disso, obviamente, devem causar efeitos similares aos melhoradores de desempenho como melhorar a eficiência da dieta e produtividade. Eles também devem aumentar a carga microbiana benéfica e reduzir as cargas microbianas prejudiciais e manter a saúde pública (MOHAMED et al., 2022).

Neste contexto, este estudo objetivou avaliar dois compostos alternativos, o tratamento composto alternativo A, que apresenta na sua composição fitoativos de canela, orégano, leveduras, manamos e glucanos, *pool* de bactérias benéficas e minerais orgânicos e o tratamento composto alternativo B, que apresenta na sua composição fitoativos de canela e orégano e um *blend* de ácidos orgânicos, como substitutos ao uso dos antibióticos na produção de ovos comerciais não férteis quanto ao desempenho zootécnico de galinhas poedeiras criadas em gaiolas, a qualidade físico-química e microbiológica dos ovos, e a microbiologia da casca dos ovos e das excretas das aves. A principal hipótese é que o fornecimento dos compostos alternativos via ração melhoraria os parâmetros avaliados frente ao grupo controle (não tratado com antibiótico convencional enramicina) com resultados similares ou melhores que os animais do tratamento positivo com enramicina, podendo assim ser recomendados como alternativas naturais para o animal, a saúde humana e o meio ambiente, sem contribuir com a problemática da resistência bacteriana.

### 3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

## 3.3.1 Instalações

O setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da UDESC Oeste está localizado no município de Chapecó – SC (latitude 27°09'S, longitude 52°61'W, altitude de 670 m). O clima é subtropical úmido, com verões relativamente quentes e invernos frescos. A temperatura foi aferida durante o experimento uma vez ao dia sendo registrado a temperatura e umidade, máxima e mínima. A temperatura média máxima durante o período foi de 27,24°C e a mínima 18,21°C e a umidade máxima 70,29% e a mínima 38,63%, sendo que para manter o conforto térmico o galpão possui ventilador e nebulizadores. O galpão tem orientação leste-oeste com cobertura de telhas de cimento-amianto, forro e cortinas laterais.

#### 3.3.2 Animais e tratamentos

Foram utilizadas 140 aves da linhagem *Isa Brown* com 22 semanas de vida, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos, sete repetições e cinco aves por gaiola do tipo metálicas equipadas com

comedouro tipo calha e bebedouros tipo *nipple*, sendo ofertado ração e água *ad libitum* sob um programa de iluminação com 16 horas diárias de luz.

Os tratamentos consistiram em: GC - grupo controle (ração basal); TP-tratamento positivo (ração basal + enramicina 10 ppm); TCA-A - tratamento alternativo A (ração basal + composto de fitoativos de orégano e canela, leveduras, manamos e glucanos, *pool* de bactérias benéficas e minerais orgânicos - 500g/ton de ração); TCA-B - tratamento alternativo B (ração basal + composto de fitoativos de orégano e canela associados a um *blend* de ácidos orgânicos na forma microencapsulada - 250g/ton).

A dieta utilizada foi formulada à base de milho e farelo de soja, de acordo com as exigências nutricionais das galinhas poedeiras e a partir da composição química e dos valores energéticos dos alimentos propostos por (ROSTAGNO et al., 2017), representada na Tabela 1. Os produtos comerciais foram incorporados na alimentação dos grupos TCA-A e TCA-B para as galinhas poedeiras. A viabilidade do lote durante o experimento foi de 100% e após o término do experimento os animais permaneceram no Campus Oeste/UDESC para futuros estudos. Este estudo foi previamente aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UDESC sob número 2916260422.

## 3.3.3 Desempenho zootécnico

O experimento foi realizado em 3 ciclos de 29 dias cada, e os ovos produzidos foram contados diariamente. Nos três últimos dias de cada ciclo foram pesados os ovos produzidos por repetição e no último dia de cada ciclo foram pesadas as sobras das rações de cada repetição. Os seguintes parâmetros foram avaliados: consumo médio diário de ração de cada ave (g/ave/dia), porcentagem de postura (%), conversão alimentar avaliada em kg de ração e por dúzia de ovos produzidos e ainda o peso médio dos ovos em gramas e o peso da massa dos ovos (peso médio x porcentagem de postura dividido por 100).

#### 3.3.4 Qualidade física dos ovos

As avaliações dos ovos foram realizadas nos três ciclos do experimento, e 12 ovos por tratamento foram coletados de forma aleatória no último dia do ciclo. Foram avaliados os seguintes parâmetros: gravidade específica, que é calculada a partir do resultado do peso do ovo no ar e o peso do ovo na água (FREITAS et al., 2004); a

resistência da casca (kgf) que foi mensurada com o auxílio do texturômetro (TA.XT Plus®) acoplado a uma sonda específica (SMS P 75); a unidade Haugh (HU) calculada a partir da altura do albúmen e do peso do ovo de acordo com a seguinte equação: UH = {100log (H+7,57 -1,7W x 0,37 )} (HAUGH, 1937), onde H é a altura do albúmen em milímetros e W é o peso do ovo em gramas.

A altura do albúmen foi mensurada usando um tripé e um micrômetro; o índice de gema (YI) foi calculado pela razão entre a altura da gema - AG (mm) e o diâmetro da gema - DG (mm), mensurado por meio de um paquímetro digital (SCATOLINI-SILVA et al., 2013).

O índice de cor da gema foi determinado usando um leque de cores DSM®, que varia de 1 a 15, sendo 1 o amarelo mais pálido e 15 o alaranjado mais intenso por meio do colorímetro (Minolta CR-400), que forneceu os parâmetros de luminosidade (L\*), intensidade do vermelho (a\*) e intensidade do amarelo (b\*).

Outros parâmetros avaliados foram % de gema, albúmen, casca e pH, onde as gemas foram separadas do albúmen e pesadas individualmente. As cascas foram lavadas e secas à temperatura ambiente por 48 h. Após a secagem foram pesados e determinados os percentuais de gema, albúmen e casca de ovo e também foi avaliado a espessura da casca através de um medidor de espessura digital. O pH da gema e do albúmen foi mensurado através de um pHmetro digital (Testo 205).

#### 3.3.5 Qualidade microbiológica dos ovos

A cada ciclo produtivo de 29 dias foram coletadas amostras de ovos (2/repetição) para análises microbiológicas. Após o descarte do albúmen e armazenamento das gemas para análises posteriores, as cascas dos ovos foram quebradas em sacos plásticos e desse material foi pesado 1 grama de amostra a qual foi adicionado 9 mL de água peptonada, na diluição 10<sup>-1</sup>. Deste preparo foi retirado 1 mL para o plaquamento. As contagens de mesófilos aeróbios, *E. coli* e coliformes totais foram realizadas utilizando Petrifil (3M). Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37±1° C por 24 horas. Após este período, a contagem das colônias foi realizada de acordo com o guia de interpretação 3M<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> correspondente para cada tipo de placa utilizada. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de casca (UFC/g).

## 3.3.6 Análise microbiológica das excretas

A cada ciclo produtivo de 29 dias foram coletadas amostras de excretas (um *pool* por repetição) para análises microbiológicas. As excretas (1 g) foram diluídas em 9 mL de água peptonada. Após teste piloto foi averiguado que a diluição ideal para bactérias aeróbias mesófilas era de 10<sup>-6</sup> e para *E. coli* e coliformes totais 10<sup>-4</sup>. A partir da obtenção das amostras, o procedimento foi similar ao utilizado para os ovos.

## 3.3.7 Peroxidação lipídica

Foi coletado uma amostra em *pool* de 2 gemas de cada repetição por ciclo. A peroxidação lipídica dos ovos foi determinada usando um espectrofotômetro medindo as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) a 532 nm, formadas durante a decomposição dos peróxidos lipídicos. O composto 1,1,3,3 tetrametoxipropano (TMP) foi utilizado como padrão TBARS. As análises foram realizadas em duplicata e os resultados expressos em mg TMP/kg de gema, conforme Giampietro et al. (2008).

## 3.3.8 Análise de perfil lipídico e quantidade de gordura

Foi coletado uma amostra em pool de 2 gemas de cada repetição para cada ciclo e essas foram avaliadas em duplicata. Para a extração dos lipídios, 1,5 g de gema de ovo foi adicionado 0,8 mL de água, 5 mL de metanol e 2,5 mL de clorofórmio, utilizando um tubo de polipropileno de 15 mL seguida de agitação mecânica por 30 min. Posteriormente, 2,5 mL de clorofórmio e solução de NaSO<sub>4</sub> 1,5% foram adicionados para promover um sistema bifásico. Essa mistura foi agitada por 2 min e, em seguida, centrifugada por 15 min a 2.000 rpm. Os lipídios obtidos da fase de clorofórmio foram submetidos à análise de ácidos graxos e a gordura resultante foi quantificada conforme descrito por Visentainer (2012). Para as análises de perfil de ácidos graxos, aos lipídios extraídos das gemas, durante a primeira etapa, foram adicionados 1 mL de KOH 0,4 M de solução metanólica em um tubo de ensaio e esta solução foi agitada em vórtex por 1 min. Após homogeneização as amostras foram mantidas em banho maria por 10 min e depois de serem resfriadas em temperatura ambiente, foi adicionado 3 mL de solução metanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Novamente passaram pelo processo de vórtex e foram mantidos em banho-maria seguida da adição de 2 mL de hexano e centrifugação (2000 rpm por 10 min). O hexano com o ácido graxo

metil ésteres (FAME) foram submetidos a análise cromatográfica e os resultados foram apresentados em porcentagem de cada ácido graxo identificada na fração lipídica, considerando o fator equivalente ao tamanho da cadeia de FAME para o fator de conversão do éster para o respectivo ácido (VISENTAINER, 2012).

#### 3.3.9 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de normalidade de distribuição e em seguida ao teste de análise de variância (ANOVA). Em casos de diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). Para todas as variáveis foram testados resultados entre ciclos e interação ciclo e tratamento, mas esses não apresentaram nível de significância. Nas análises microbiológicas os resultados não apresentaram normalidade, sendo avaliado por transformação logarítmica e comparado as médias por teste de Tukey com nível de significância a 5%.

#### 3.4 RESULTADOS

## 3.4.1 Desempenho zootécnico

O consumo de ração das aves (grama/ave/dia) do grupo GC foi maior que das aves do grupo TP, mas esses não diferiram das aves dos tratamentos TCA-A e TCA-B (P=0,023). Para as variáveis porcentagem de postura (%), peso do ovo (gramas), massa de ovos (grama/aves/dia), conversão alimentar (kg/kg) e conversão alimentar (kg/dúzia) não houve efeito dos tratamentos (P≥0,05), conforme Tabela 2.

#### 3.4.2. Qualidade externa do ovo

Para as variáveis gravidade específica, resistência da casca, porcentagem de casca e espessura de casca não houve diferença significativa (P≥0,05). A porcentagem de gema para o grupo TP apresentou melhor resultado (27,08%), seguido pelo TCA-B (26,43%) e TCA-A (26,25%), sendo que os ovos desses dois grupos apresentaram resultados semelhantes aos ovos do grupo GC (26,02%, P=0,042). Para a porcentagem de albúmen, os ovos do grupo GC apresentaram

melhores resultados (63,27%), seguido pelos grupos TCA-A (62,18%) e TP (62,09%), (P=0,033), conforme Tabela 3.

#### 3.4.3 Qualidade interna do ovo

Nas variáveis colorimétricas da gema em I, a e b, e índice de gema não foi obsevado diferença significativa (P≥0,05). Na variável unidade Haugh (UH), os ovos dos grupos TCA-B apresentaram maiores resultados (105,69 UH), seguido pelos ovos dos grupos TP (103,86 UH) e TCA-A (103,84) (P≤0,001). Na variável cor da gema por leque, os grupos TCA-A e TCA-B apresentaram melhores resultados, com médias de 8,72 e 8,69, respectivamente, em comparação aos ovos dos grupos TP (8,30) e GC (8,52) (P=0,018). Para as variáveis de pH de gema os ovos das aves dos grupos TCA-A com 5,83, TCA-B 5,77 e TP 5,75 apresentaram resultados superiores que o grupo GC 5,66 (P≤0,01). Para a variável pH de albúmen os ovos dos grupos TCA-B apresentaram maior média (7,84), seguido pelos ovos dos grupos TCA-A (7,69), TP (7,63) e GC (7,58, P≤0,01), conforme Tabela 4.

### 3.4.4 Qualidade microbiológica dos ovos

Nas cascas dos ovos dos grupos TCA-A (1,77 log UFC/g) e TCA-B (1,66 log UFC/g) as contagens bacterianas foram menores que aos dos grupos TP (2,21 log UFC/g) e GC (2,44 log UFC/g), P≤0,001, conforme Tabela 5.

### 3.4.5 Qualidade microbiológica das excretas

Não foi observado significância estatística para as contagens de *E. coli* conforme o teste de Tukey (P≥0,05). As excretas das aves dos tratamentos TCA-A (5,09 log UFC/g), TCA-B (5,27 log UFC/g) e TP (5,27 logs UFC/g) apresentaram resultados menores que as excretas do grupo GC (5,77 log UFC/g) (P <0,001). Para as análises de mesófilos aeróbios foi observado que as excretas das aves do TCA-A (6,82 log UFC/g) apresentaram menores contagens, seguido pelas excretas das aves do grupo TCA-B (7,18 log UFC/g), e esses dois grupos com valores menores que das excretas das aves dos grupos GC (7,57 log UFC/g) e TP (7,55 log UFC/g), P = 0,018, conforme Tabela 6.

### 3.4.6 Peroxidação lipídica

Nas avaliações dos resultados da peroxidação lipídica, não foram observadas diferenças entre as médias dos tratamentos (P≥0,05), conforme Tabela 7.

### 3.4.7 Quantidade de gordura

Nas avaliações das quantidades de gordura não houve diferença entre as médias dos tratamentos (P≥0,05), conforme Tabela 8.

### 3.4.8 Perfil lipídico

Para os ácidos graxos saturados AGS, C12:0 (láurico), C14:0 (mirístico), C15:0 (pentadecanóico), C20:0 (araquidico), C22:0 (behênico), C24:0 (lignocérico), não houve diferença entre as médias dos tratamentos (P ≥ 0,05). Em relação aos ácidos graxos C16:0 (palmítico) os grupos TCA-B (28,04 %) e GC (27,94%) apresentaram maiores resultados, seguido pelos grupos TCA-A (27,67) e TP (27,31%) (P=0,0026). Para o AG C17:0 (heptadecanóico ou margárico) o grupo TP (0,17%) apresentou maior resultado que os demais grupos, GC (0,16%) e ao TCA-A (0,16%) e TCA-B (0,16%), com nível de significância P=0,0133. Ainda, para o AGS C18:0 (esteárico) o grupo TP (9,78%) apresentou melhor resultado, porém foi semelhante ao GC (9,555) e superior aos tratamentos TCA-A (9,45%) e TCA-B (9,385) (P=0,0063).

Para os ácidos graxos insaturados AGI C14:1 (miristoléico), C18:1n9c (oleico), C18:2n6c (linolêico), C18:3n6 (linolênico), C20:1n9 (cis-11-eicosenóico), C20:3n6 (cis-8,11,14-eicosatrienoico), C22:1n9 (erúcico), C20:4n6 (araquidónico), C22:2 (cis-13,16-docosadienóico), C20:5n3 (cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico), C22:6n3 (cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico) não houve diferença significativa entre as médias dos grupos, (P≥0,05). Com tudo, para o AGI C16:1 (palmitoléico) o tratamento TCA-B (2,43%) apresentou melhor resultado, sendo semelhante ao grupo TCA-A (2,39%) e ao GC (2,32%), e superior ao grupo TP (2,20%), com nível de significância P=0,0145. Com relação ao AGI C18:3n3 (a-linolênico), o grupo TP (0,46%) apresentou maior resultado, porém foi semelhante aos grupos TCA-A (0,46%) e TCA-B (0,44%), com nível de significância P=0,0295. Para o AGI, C20:2 (cis-11,14-eicosadienóico) o grupo TP (0,21%) foi superior ao GC (0,19%) e aos grupos TCA-A (0,20%) e TCA-B (0,19%), com nível de significância P<0,0001. Com relação ao AGI C24:1n9 (nervônico) os grupos TCA-A (0,024%), o TP (0,024%) e o GC (0,024%) foram

superiores ao TCA-B (0,023%), com nível de significância P=0,0419, conforme Tabela 9.

#### 3.4 DISCUSSÃO

Nas avaliações de desempenho zootécnico houveram um aumento no consumo de ração dos animais do grupo GC, e essa variável é bastante importante do ponto de vista econômico, uma vez que os custos relacionados a alimentação representam algo entre 65 a 70% do custo total envolvido na produção de ovos. Além disso, por se tratar de uma atividade econômica de escala, ou seja, onde a margem de lucro unitário é muito pequena, qualquer desatenção no controle dos custos de produção sensivelmente a viabilidade econômica atividade impacta (NASCIMENTO et al., 2005). Uma série de fatores como espécie do animal, idade e quantidades de compostos fornecidos podem afetar a ingestão de ração, assim como pelo odor e palatabilidade (MIGLIORINI, 2017). Embora alguns autores citem que os benefícios dos fitogênicos incluem a promoção do aumento de consumo alimentar (MADHUPRIYA et al., 2018), sabe-se também que as aves possuem menor quantidade de papilas gustativas e, devido a isso suas percepções gustativas são menos desenvolvidas, o que pode justificar a falta de efeito da inclusão dos fitogênicos no consumo de ração (ZHANG et al., 2021).

Na variável porcentagem de gema e albúmen os ovos dos grupos TCA-A, TCA-B e TP apresentaram maiores resultados que os ovos do grupo GC. Aproximadamente 90% do peso do ovo, é composta por gema e albúmen. O albumén é constituída de 88,5% de água e 13,5% de proteínas, vitaminas do complexo B (riboflavina – B2) e traços de gorduras. A gema é uma emulsão de gordura (52%) composta proteínas, (16%) lipídios (34%) vitaminas solúveis em lipídios A, D, E e K e ainda esta presente na sua composição, glicose, lecitina e sais minerais. (MEDEIROS; ALVES, 2014). Sendo assim, uma maior quantidade de gema é uma característica nutricional favorável.

A UH é um dos principais parâmetros que quantifica a qualidade do ovo e tratase de uma expressão matemática que correlaciona o peso do ovo com a altura da clara espessa, e de modo geral, quanto maior o valor de UH, melhor a qualidade do ovo. Os valores de UH para ovos de excelente qualidade é igual ou menor que 72 (ALLEONI, 2001). Os grupos TCA-A, TCA-B e TP tiveram efeito positivo, nesta variável. A diminuição do valor da unidade Haugh de ovos frescos pode ser explicado, parcialmente, por efeitos patológicos subclínicos, segundo descreve o autor Alleoni, (2001). Os compostos utilizados atuam diretamente na microbiota intestinal, modulando as funções fisiológicas e mantendo a homeostase, impossibilitando a colonização de microrganismos (ALLEONI, 2001). Esse resultado também foi descrito por Muhammad et al., (2021) que ao adicionar fitogênicos na dieta de 96 galinhas poedeiras, da linhagem Isa Brown, com 28 semanas de idade, teve uma melhora nos valores da UH.

Os pigmentos responsáveis pela definição da cor da gema são carotenoides, encontrados em abundância na natureza em alguns vegetais e também de forma artificial, conferindo-lhes uma coloração que pode variar entre amarelo e vermelho. Embora as aves não consigam produzir os carotenoides, são capazes de adquiri-los através da alimentação (GARCIA et al., 2002). A cor da gema não indica a qualidade nutricional, mas está ligada ao aspecto visual, sendo um atributo primordial para a grande maioria dos consumidores. Segundo Fassani et al. (2019), a característica considerada mais importante no ovo é a pigmentação da gema, sendo a cor alaranjada a mais preferida por ser considerada, visualmente, a mais agradável e saborosa. Os ovos dos tratamentos TCA-A e TCA-B apresentaram resultados de cor de gema maiores que os ovos dos grupos TP e GC. Santos et al. (2019), observaram que houve influência na cor da gema, ao adicionar fitogênicos a base de canela em pó na ração de codornas japonesas, aumentando o grau da cor, mostrando que a canela tem efeito pigmentante, devido a presença de carotenoides. Os tratamentos utilizados neste trabalho ainda promovem uma melhor absorção dos nutrientes da dieta de forma geral, pela modulação da microbiota do trato gastrointestinal, o que proporciona um maior aproveitamento dos carotenoides fornecidos na ração. Resultados semelhantes foram encontrados por Migliorini, (2017) que ao adicionar, na dieta de galinhas poedeiras, fitogênicos a base de óleo essencial de orégano, também obteve como resultado uma maior coloração de gema em avalição por leque.

No ovo recém-posto, o pH do albúmen varia de 7,6 a 7,9 e o pH da gema fresca é geralmente cerca de 6. Quanto maior o pH, pior é a qualidade do ovo. À medida que o pH sobe, as características do ovo vão se alterando, as ligações entre as moléculas que compõem a membrana que envolve a gema, ficam mais fracas e a membrana fica então menos coesa, com isso a água tende a se mover do albúmen para a gema,

aumentando o seu tamanho (FERNANDES et al., 2015). Por outro lado, a diminuição do pH influência no crescimento bacteriano, pois facilita a penetração de substâncias na parede celular e bloqueia funções celulares importantes como a replicação e a síntese de proteínas das bactérias (WOONG et al., 2015). Para as variáveis de pH de gema e albúmen os ovos do grupo GC apresentaram pH mais baixo. Contudo, os parâmetros de todos os grupos se encontram dentro da normalidade, ou seja, ambos os tratamentos mantiveram a qualidade do ovo no quesito pH de gema e albúmen.

Para os resultados de mesófilos aeróbios na casca do ovo, foi possível observar que os tratamentos alternativos TCA-A e TCA-B apresentaram efeito na diminuição da contagem de colônias bacterianas, o que pode ter ocorrido pela capacidade dos fitogênicos de desintegrar a membrana externa das bactérias, liberando lipopolissacarídeos, aumentando a permeabilidade ao ATP e despolarizando a membrana citoplasmática (BRENES; ROURA, 2010). Esses resultados podem ter sido influenciados também pelos ácidos orgânicos presentes nos compostos, já que possuem atividade antimicrobiana pela capacidade de atravessar a membrana, dissociando-se no interior da célula e acidificando o citoplasma, podendo se difundir através da membrana de bactérias lipofílicas e interromper as reações enzimáticas e o sistema de transporte (GUNAL et al., 2006). A diminuição na contagem bacteriana pode ainda ser explicada pelo bloqueio da adesão bacteriana ao intestino, através da interferência dos compostos no receptor da camada mucosa (KOSCOVA et al., 2008).

Nas fezes, as contagens de *E. coli*, não apresentaram diferenças significativas (P≥0,05), porém observou-se uma tendência da diminuição do número de contagem de colônias, nos grupos TCA-A e TCA-B e TP. Isso talvez se deva ao efeito dos compostos nos mecanismos de defesa do microrganismo como na inibição da bomba de efluxo que são proteínas de transmembrana com a capacidade de transportar moléculas para o exterior das células (AL-MNASER; WOODWARD, 2020). Nos resultados de coliformes totais e mesófilos aeróbios os grupos TCA-A e TCA-B influenciaram na contagem microbiológica. De modo geral, observa-se que os tratamentos utilizados atuaram diretamente nas células bacterianas, modificando positivamente a microbiota intestinal e diminuindo a contagem microbiana. Esses resultados também foram encontrados por Abouelezz et al. (2019) que verificaram a diminuição da contagem de mesófilos nas excretas de patos após a adição de fitogênicos à base de OEs de orégano na dieta.

As diferenças encontradas entre os tratamentos para a peroxidação lipídica não foram significativas. Sabe-se que ela é a principal causa de deterioração dos alimentos, e trata-se de um complexo processo em que ocorre a reação os ácidos graxos insaturados com o oxigênio, por meio de um mecanismo de radicais livres em cadeia, formando hidroperóxidos. Os problemas associados à oxidação lipídica envolvem a alteração de sabor, perda de valor nutritivo, danos biológicos e alterações de propriedades funcionais (PICCOLO, 2014).

A gema de ovo é composta basicamente de gorduras (lipídios) e proteínas, que se combinam para a formação das lipoproteínas, das quais 60% do peso da gema é de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), e são conhecidas por serem sintetizado pelo fígado através da ação do estrogênio. Na galinha poedeira, o LDL é removido do plasma sanguíneo como partículas intactas para a deposição do mesmo diretamente nos óvulos em desenvolvimento (JOLIVET et al., 2006). Segundo Vilela et al. (2016), em galinhas poedeiras de ovos comercias as quantidades de gordura da gema aumentam em razão do avanço da idade, devido a maior deposição de gordura corporal, e neste trabalho a quantidade de gordura avaliada não teve influência dos tratamentos o que pode ser explicado pela idade das poedeiras ao termino do experimento.

O ovo é um dos alimentos mais completos para a alimentação humana, apresentando uma vasta composição de ácidos graxos. A qualidade nutricional do ovo e a quantidade de lipídios podem ser modificadas de acordo com as fontes recebidas nas dietas (PARDÍO, 2005). Em ovos provenientes de aves alimentadas com dietas convencionais, os ácidos graxos saturados compreendem cerca de 30 a 35% da fração lipídica da gema com predominância do palmítico (C16:0, indo de 22 a 26%) e esteárico (C18:0, de 8 a 10%), existindo, além desses, pequenas quantidades de mirístico (C14:0) e araquídico (C20:0). Os ácidos graxos monoinsaturados são constituídos pelo palmitoleico (C16:1) e oleico (C18:1), que compõem de 42 a 46%, sendo o oleico o majoritário. Os ácidos graxos poliinsaturados nesses tipos de ovos estão predominantemente na forma de ácido linolêico (C18:2 ω-6). Além desse, estão presentes em menores quantidades outros representantes da família ω-6, como o araquidônico (C20:4 ω-6), docosatetraenóico (C22:4 ω-6) e docosapentaenóico (C22:5 ω-6). O teor de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa ω-6 pode variar entre 1 e 2%. O conteúdo de ácidos graxos ω-3 é representado pelos ácidos alfalinolênico (C18:3 ω-3), eicosapentaenóico (EPA, C20:5 ω-3), docosapentaenóico (C22:5 ω-3) e docosahexaenóico (DHA, C22:6 ω-3), sendo o DHA o ω-3 majoritário. O alfa-linolênico constitui menos de 1% da fração lipídica de ovos convencionais (HUI, 2006), essa composição citada, se assemelha a encontrada neste estudo, conforme descrito na tabela 9.

Os ácidos graxos saturados aumentam o colesterol total e de lipoproteína de baixa densidade (LDL), e os ácidos mirístico e palmítico têm maior efeito e estão relacionados ao aumento de doenças cardiovasculares (OMS, 2003). O TP apresentou melhores resultados para o ácido graxo palmítico C16:0, com índices mais baixos e foi semelhante ao tratamento TCA-A. O ácido margárico ou C17:0 heptadecanoico é um ácido graxo saturado que raramente é encontrado em animais, desempenha um papel semioquímico, e possui propriedades feromônicas e alomônicas, não apresentando assim funções nutricionais (BEARE et al., 2001). Os compostos utilizados nos TCA-A e TCA-B não influenciaram nos resultados deste AG.

A porcentagem de ácido graxo esteárico C18:0, foi influenciada positivamente pelos grupos TCA-A e TCA-B. sendo um efeito benéfico, pois esse AG está associado ao colesterol LDL, que mesmo de maneira reduzida quando comparada a outros ácidos graxos saturados, trazem malefícios a saúde (OLIVEIRA et al., 2009).

O ácido palmitoléico C16:1 é um ácido graxo monoinsaturado ômega-7 que é um constituinte comum dos glicerídeos do tecido adiposo humano. Está presente em todos os tecidos, mas, em geral, encontra-se em concentrações mais elevadas no fígado. Estudos em cultura animal e celular indicam que o ácido palmitoléico é anti-inflamatório e melhora a sensibilidade à insulina no fígado e no músculo esquelético (SOUZA et al., 2018). Sendo assim, o tratamento TCA- B apresentou maior % deste AG, sendo uma característica importante para a qualidade do ovo.

O ácido alfa-linolênico C18:3n3 é considerado um ácido graxo essencial ou ômega-3, e possui grande importância científica por que não são sintetizados pelo organismo humano (KUS e MANCINI, 2010). A ingestão dietética pode melhorar os perfis lipídicos, diminuindo os triglicerídeos, o colesterol total, a lipoproteína de alta densidade e a lipoproteína de baixa densidade, e ainda está associada a um risco reduzido de mortalidade por doença cardiovascular e doença cardíaca coronariana (HAO et al., 2020). Para esse AG, os tratamentos TCA-B, TCA-A e TP tiveram influencia positiva nas quantidades. Para o C20:2 (cis-11,14-eicosadienoico) o grupo TP, apresentou maior influência na porcentagem, quando comparado aos demais grupos. Esse AG é classificado como um ômega 6 que oferece diversos benefícios à

saúde, uma vez que o organismo o necessita para manter algumas funções importantes em funcionamento, entre elas estão a formação das membranas celulares; a síntese hormonal; o correto funcionamento do sistema imunológico; a adequada formação da retina; e o funcionamento neuronal e a transmissão dos impulsos nervosos (CHOW, 2001).

O ácido nervônico (C24:1n9) pode estar envolvido no crescimento e manutenção do tecido nervoso como regulador dos canais iônicos de Ca<sup>2+</sup> nas membranas celulares do tecido nervoso. O ácido nervônico é particularmente abundante na substância branca de cérebros de animais e no tecido nervoso periférico, onde os esfingolipídios nervonílicos são enriquecidos na bainha de mielina das fibras nervosas (SANDHIR et al., 1998).

Os produtos utilizados neste experimento, de modo geral protegem o organismo do animal contra os efeitos nocivos dos radicais livres, o que favorece a saúde e o bem-estar dos animais, garantindo a qualidade do produto final, com perfis lipídico e proteico preservados do estresse oxidativo (CHRISTOFOLI et al., 2020).

A utilização dos compostos alternativos TCA-A e TCA-B foram benéficos para algumas importantes características zootécnicas e na qualidade de ovo, como na UH e coloração de gema, onde os compostos apresentaram resultados semelhantes a enramicina. Microbiologicamente os produtos avaliados apresentaram excelentes resultados, sendo mais eficientes que a enramicina. Ainda interferiu positivamente nos resultados do perfil lipídico da gema, melhorando sua qualidade nutritiva.

## 3.5 CONCLUSÃO

A utilização dos compostos alternativos TCA-A e TCA-B à base de fitobióticos, ácidos orgânicos, probióticos e prebióticos são benéficos para algumas importantes características zootécnicas e de qualidade do ovo. Estes tratamentos proporcionaram também a diminuição da contagem bacteriana na casca e nas fezes, e de modo geral, afetou positivamente os resultados do perfil lipídico da gema, melhorando sua qualidade nutritiva. Sendo assim, podem ser considerados eficientes como alternativa ao uso dos antibióticos convencionais.

### 3.6 TABELAS

Tabela 1 - Composição alimentar da dieta experimental.

Ingredientes (g/kg)	Quantidade		
Milho Farelo de soja, 45% Calcário calcítico	653,13 213,33 93,35		
Fosfato bicálcico	12,64		
Óleo de soja DL-Metionina 98% L-lisina 78% L-treonina 99% NaCl (sal comum) Premix*	16,72 2,75 0,49 0,43 5,10 2,00		
TOTAL	1000		
Valores calculados E Met (Kcal/Kg) Proteína bruta (%)	2.850 15,14		
Cálcio (%) Fósforo disponível (%) Lisina digestível (%) Metionina digestível (%) Met. + Cist. Dig. (%) Treonina Dig. (%) Triptofano Dig. (%)	3,90 0,32 0,71 0,48 0,70 0,55 0,16		
Sódio Cloro Potássio	0,22 0,35 0,58		

<sup>\*</sup> Níveis mínimos de vitaminas e minerais por kg de produto: vitamina A (5.000.000 UI); vitamina D3 (1.000.000 UI); vitamina E (15.000 UI); vitamina K3 (1,500 mg); vitamina B1 (1,500 mg); vitamina B2 (3.000 mg); vitamina B6 (2.000 mg); vitamina B12 (7.000 mcg); ácido fólico (500 mg); ácido nicotínico (15 g); ácido pantotênico (7000 mcg); colina (80 g); biotina (100 mg); Cobre (10 g); ferro (50 g); iodo (1.000 mg); manganês (80 g); selênio (300 mg); zinco (70 g); umidade mínima (20 g); matéria mineral máxima (980 g).

Tabela 2 - Desempenho zootécnico de galinhas poedeiras alimentadas com compostos alternativos.

Tratamento	Consumo	%	Peso	Massa	Conversão	Conversão
Tratamento	Ração	Postura	Ovo	Ovo	Alimentar/kg	Alimentar/dz
Controle	119,65 <sup>A</sup>	94,45	60,26	56,83	2,11	1,52
Positivo	114,71 <sup>B</sup>	91,62	61,53	56,55	2,06	1,51
Composto	117,37 <sup>AB</sup>	04.40	C1 1E	E7 70	2.04	1 40
Alternativo-A	117,37	94,42	61,15	57,73	2,04	1,49
Composto	118,67 AB	02.56	60.22	EC 17	2.12	1,53
Alternativo-B	110,07	93,56	60,32	56,17	2,13	
Р	0,023	0,278	0,664	0,704	0,237	0,808
CV (%)	2,39	3,17	3,71	4,49	4,22	4,65

P = nível de significância pela Análise de variância a 5%, CV = (%) coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna indicam diferença pelo teste de Tukey com significância (P≥0,05).

Tabela 3 - Qualidade externa do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com compostos alternativos.

Tratamento	Gravidade	Resistência	%	%	%	Espessura
	Específica	Casca	Casca	Gema	Albúmen	Casca
Controle	1,0857	4,388	10,70	26,02 <sup>B</sup>	63,27 <sup>A</sup>	0,379
Positivo  Composto  Alternativo-A	1,0841	5,001	10,82	27,08 <sup>A</sup>	62,09 AB	0,380
	1,0858	4,576	11,56	26,25 <sup>AB</sup>	62,18 AB	0,375
Composto Alternativo-B	1,0832	4,726	11,68	26,43 AB	61,88 <sup>B</sup>	0,337
P	0,667	0,068	0,053	0,042	0,033	0,856
CV (%)	0,55	11,89	9,19	3,41	1,91	4,23

P = nível de significância pela Análise de variância a 5%, CV = (%) coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna indicam diferença pelo teste de Tukey com significância (P≥0,05).

Tabela 4 - Qualidade interna do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com compostos alternativos.

Tratamento	Unidade Hauhg	Leque Colorimétrico	L*	a*	b*	pH Gema	pH Albúmen	Indice Gema
Controle	101,24 <sup>B</sup>	8,52 AB	55,34	- 5,98	45,25	5,66 B	7,58 <sup>B</sup>	0,498
Positivo	103,86 AB	8,30 <sup>B</sup>	54,56	-6,12	45,41	5,75 <sup>AB</sup>	7,63 <sup>B</sup>	0,500
Composto Alternativo-A	103,84 <sup>AB</sup>	8,69 <sup>A</sup>	53,03	-5,93	43,07	5,77 <sup>AB</sup>	7,69 AB	0,510
Composto Alternativo-B	105,69 <sup>A</sup>	8,72 <sup>A</sup>	54,74	-6,21	45,14	5,83 <sup>A</sup>	7,84 <sup>A</sup>	0,529
Р	<0,001	0,018	0,399	0,255	0,302	<0,01	<0,01	0,089
CV (%)	2,25	3,94	6,21	36,69	7,59	1,86	2,17	6,29

P = nível de significância pela Análise de variância a 5%, CV = (%) coeficiente de variação. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna indicam diferença pelo teste de Tukey com significância (P≥0,05).

Luminosidade (L\*), intensidade de vermelho (a\*), intensidade de amarelo (b\*)

Tabela 5 - Contagem microbiológica da casca do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com compostos alternativos.

Tratamento (média ± desvio - log UFC/g)
Mesófilos Totais
2,44 ± 0,45 <sup>A</sup>
2,21 ± 0,66 <sup>A</sup>
$1,66 \pm 0,46$ B
1,77 ± 0,31 <sup>B</sup>

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha indicam diferença pelo teste de Tukey com significância (P≥0,05).

Tabela 6 - Contagem microbiológica das excretas de galinhas poedeiras alimentadas com compostos alternativos.

Variável	Tratamento (média ± desvio padrão - log UFC/g)				
vanavei	E. coli	Coliformes Totais	Mesófilos Aeróbios		
Controle	$3,47 \pm 1,99$	5,77 ± 0,56 <sup>A</sup>	7,57 ± 1,06 <sup>A</sup>		
Positivo	$2,86 \pm 2,45$	$5,27 \pm 0,54$ B	7,54 ± 0,57 <sup>A</sup>		
Composto Alternativo-A	$2,45 \pm 2,34$	$5.09 \pm 0.67$ B	$7,18 \pm 0,63$ B		
Composto Alternativo-B	$2,66 \pm 2,02$	$5,27 \pm 0,35$ B	$6,82 \pm 0,83$ B		

Grupos não diferem significativamente no Teste de Tukey com significância (P≥0,05).

Tabela 7 - Peroxidação lipídica através da substância reativa ao ácido tiobarbitúrico na gema do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com compostos alternativos

	Tratamento (média ± desvio-padrão - mg TMP/kg)					
Variável	Grupo	Positivo	Composto	Composto		
vanavei	vel Positivo Controle	Positivo	Alterantivo-A	Alternativo-B		
TBARS (média)	1,62	1,50	1,64	1,67		
Ciclo 1	$2,31 \pm 0,32$	$2,41 \pm 0,54$	$2,56 \pm 0,38$	$2,32 \pm 0,39$		
Ciclo 2	$1,56 \pm 0,28$	$1,29 \pm 0,41$	$1,22 \pm 0,40$	$1,56 \pm 0,24$		
Ciclo 3	$0,99 \pm 0,25$	$0,79 \pm 0,25$	1,15 ± 0,31	$0,14 \pm 0,30$		

Tabela 8 - Quantidade de gordura na gema do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com compostos alternativos (porcentagem).

		Tratamento (n	nédia ± desvio-padr	ão)
Variável	Grupo	Positivo	Composto	Composto
	Controle		Alterantivo-A	Alternativo-B
Gordura	26,49 ± 7	27,38 ± 4	26,82 ± 4	27,76 ± 5
Ciclo 1	$29,41 \pm 1,20$	$29,45 \pm 2,42$	$29,37 \pm 1,56$	$28,86 \pm 2,33$
Ciclo 2	$25,1 \pm 2,98$	$29,34 \pm 1,37$	$26,63 \pm 3,85$	$26,23 \pm 4,16$
Ciclo 3	$20,17 \pm 2,13$	$24,32 \pm 3,02$	$24,44 \pm 2,86$	$25,99 \pm 3,93$

Tabela 9 - Perfil lipídico de ácidos graxos da gema do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com compostos alternativos.

	Tratamento (média ±desvio-padrão)						
Ácido Graxo	Controle	Positivo	Composto	Composto	Valor de		
Acido Graxo	Controle	Positivo	Alternativo-A	Alternativo-B	Р		
Láurico	0,005±0,002	0,006±0,007	0,005±0,001	0,005±0,001	0,2291		
Mirístico	0,30±0,03	0,30±0,04	0,29±0,02	$0,28 \pm 0,03$	0,0807		
Pentadecanoico	0,05±0,005	0,05±0,011	0,05±0,004	0,05±0,007	0,5850		
Palmítico	27,94±0,54a	27,31±0,91 <sup>b</sup>	27,67±0,84 <sup>ab</sup>	28,04±0,86 <sup>a</sup>	0,0026		
Márgarico	0,16±0,015 <sup>ab</sup>	0,17±0,021a	0,16±0,017 <sup>ab</sup>	0,16±0,02 ab	0,0133		
Esteárico	9,55±0,48 <sup>ab</sup>	9,78±0,50 <sup>a</sup>	9,45±0,34 <sup>b</sup>	9,38±0,39 <sup>b</sup>	0,0063		
Araquidico	0,04±0,005	0,03±0,003	0,03±0,002	0,04±0,004	0,4474		
Behnico	0,028±0,004	0,03±0,002	0,03±0,003	0,03±0,003	0,3697		
Lignocérico	0,022±0,003	0,022±0,002	0,022±0,002	0,022±0,006	0,8389		
Miristoléico	0,05±0,007	0,05±0,007	0,05±0,010	0,05±0,008	0,2193		
Palmitoléico	2,32±0,23ab	2,20±0,26 <sup>b</sup>	2,39±0,34 <sup>ab</sup>	2,43±0,27 <sup>a</sup>	0,0145		
Oleico	40,78±0,87	40,59±1,51	40,43±0,98	40,50±1,47	0,7443		
2n6c - linolêico	15,33±0,77	15,90±1,13	15,95±0,92	15,66±1,13	0,0896		
3n6 - linolênico	0,11±0,011	0,11±0,013	0,11±0,012	0,12±0,015	0,0320		
cis-11- eicosenóico	0,22±0,012	0,22±0,015	0,21±0,017	0,21±0,008	0,0620		
a-linolênico	$0,42\pm0,05^{b}$	$0,46\pm0,07^{a}$	0,46±0,04 <sup>ab</sup>	0,44±0,04 <sup>ab</sup>	0,0295		
Eicosadienóico	0,19±0,03 <sup>b</sup>	0,21±0,02 <sup>a</sup>	$0,20\pm0,02^{b}$	0,19±0,02 <sup>b</sup>	<0,0001		
Eicosatrienoico	0,006±0,001	0,005±0,002	0,005±0,002	0,005±0,001	0,9893		
Erúcico	0,006±0,003	0,007±0,002	0,007±0,002	0,006±0,003	0,6580		
Araquidónico	0,04±0,005	0,03±0,003	0,03±0,002	0,04±0,004	0,4474		
Docosadienóico	0,005±0,007	0,006±0,001	0,006±0,009	0,006±0,006	0,6567		
Eicosapentaenoico	0,006±0,001	0,005±0,002	0,005±0,002	0,005±0,001	0,9893		
Nervônico	0,024±0,004a	0,024±0,004a	0,024±0,003a	$0,023\pm0,004^{b}$	0,0419		
Docosahexaenóico	0,005±0,0007	0,006±0,001	0,006±0,0009	0,006±0,0006	0,6567		

P = nível de significância pela Análise de variância a 5%.

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha indicam diferença pelo teste de Tukey com significância (P≥0,05).

# 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de antimicrobianos como melhoradores de desempenho para galinhas poedeiras tem sido bastante discutida pela comunidade científica, e sabe-se que a utilização destas substâncias pode resultar no aparecimento de cepas bacterianas resistentes e multirresistentes e que na cadeia produtiva de ovos a utilização do período de carência, torna-se inviável pela produção ser contínua e diária. Com isso, busca-se compostos alternativos que visam manter os benefícios dos melhoradores de desempenho, diminuindo a problemática em relação a resistência no âmbito da saúde pública.

Neste estudo foram utilizados dois compostos alternativos a base de fitobióticos, ácido orgânicos, probióticos e prebióticos na alimentação de galinhas poedeiras, afim de avaliar a eficência deste, quando comparado ao grupo controle e ao tratamento positivo com enramicina. Para os parâmetros de desempenho zootécnico os tratamentos TCA-A e TCA-B mantiveram os resultados do TP, apresentando um consumo menor de ração quando comparado ao grupo controle. Os tratamentos melhoraram importantes características comerciais de qualidade do ovo, como a coloração da gema, onde os grupos TCA-A e TCA-B mantiveram os resultados do TP com enramicina, apresentando coloração mais amarelada que o GC, e também na unidade Haugh, onde TCA-B apresentou maiores resultados, que o TP e o TCA-A. Nas contagens microbiólogicas de mesófilos aeróbios na casca do ovo, os tratamentos TCA-A e TCA-B apresentaram menores resultados de UFC/g quando comparado ao TP e ao GC. Para as avaliações microbiológicas das excretas, os resultados de coliformes totais dos TCA-A e TCA-B foram semelhantes ao TP e apresentaram contagens menores que o GC, já para os mesófilos aeróbios o TCA-B e TCA-A apresentaram melhores resultados de UFC/g quando comparado o TP e o GC. Essa influência nas avaliações microbiológicas impacta diretamente na saúde e na produtividade das aves. O perfil lipídico da gema foi melhorado, aumentando inclusive ácido graxos omega 3, considerados benéficos para saúde humana.

Com isso, de acordo com o experimento realizado, os compostos alternativos utilizados podem ser opção ao uso dos antibióticos convencionais na dieta de galinhas poedeiras, já que podem influenciar no desempenho zootécnico, na qualidade do ovo, na saúde geral das aves, mantendo a característica dos antibióticos como

melhoradores de desempenho e auxiliando em relação a problemática da resistência bacteriana, que se tornou uma grande preocupação para a saúde publica.

### REFERÊNCIAS

ABOUELEZZ, K.; ABOU-HADIED, M.; YUAN, J.; ELOKIL, A. A.; WANG. G.; WANG, S.; WANG, J.; BIAN, G. Nutritional impacts of dietary oregano and Enviva essential oils on the performance, gut microbiota and blood biochemicals of growing ducks. **Animal,** v.13, p.2216-22, 2019.

ABPA. Relatório anual 2023. Disponível em: https:// relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf (abpa-br.org). Acesso em junho de 2023.

ALLEONI, A. C. C. Unidade haugh como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. **Scientia Agricola**, v.58, n.4, p.681-5, 2001.

AL-MNASER, A. A.; WOODWARD, M. J. Concentrações subletais de fitoquímicos (carvacrol e orégano) selecionam mutantes de suscetibilidade reduzida de *Escherichia coli* O23: H52. **Microbiology**, v.69, 2020.

AL-MUTAIRI, H. M. S.; HUSSEIN, E. O. S.; NABI, A. R. J. E.; SWELUM, A. A.; EL-HACK, M. E. A.; TAHA, A. E. AL-MUFARREJ, A. I. Does the consumption of acidified drinkingwater affect growth performance and lymphoid organs of broilers? **Sustainability** (Switzerland), v.12, n.8, p.1-9, 2020.

ÁNGEL-ISAZA, J.; SALGADO, N. Ácidos orgánicos, una alternativa en la nutrición avícola: una revisión. **Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v.14, p.45-58, 2019.

BEARE. R. J., DIEFFENBACHER, A., HOLM. J.V. Lexicon of lipid nutrition (IUPAC Technical Report), v.73, n.4, p 685-744, 2001.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v. 158, p. 1-4, 2010.

CARDINAL, K. M., KIPPER, M., ANDRETTA, I., RIBEIRO, A. L. M. Withdrawal of antibiotic growth promoters from broiler diets: performance indexes and economic impact. **Poultry Science**, v.98, p.6659-67, 2019.

CASTRO, C. C.; SILVA, A. R. C.; FRANCO, C. de J. P.; SIQUEIRA, G. M.; CASCAES, M. M.; NASCIMENTO, L. D.; ANDRADE, E. H. Caracterização química do óleo essencial das folhas, galhos e frutos de *Cinnamomum verum J. Presl* (Lauraceae). **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.6, p.41320-33, 2020.

CASTRONOVO, L.M.; CALONICO, C.; ASCRIZZI, R. The cultivable bacterial microbiota associated to the medicinal plant *Origanum vulgare L.*: from antibiotic resistance to growth-inhibitory properties. **Frontiers in Microbiology**, v.11, 2020.

CHILANTI, G., ISOLAN, L. W. Importância da rastreabilidade de ovos para a segurança alimentar. **6º Simpósio de Segurança Alimentar**, Gramado, RS. 2018.

CHOW, C.K. Ácidos graxos em alimentos e suas implicações para a saúde. **Routledge Publishing**, 3°ed, 2007.

CHRISTOFOLI, M.; SOUZA, C. S.; COSTA, T. F.; ALEXANDRINO, S. L. de S. A.; FARIA, P. P.; REZENDE, C. S. M.; SANTOS, F. R.; MINAFRA, C. S.; PEREIRA, P. S. Microbiota intestinal benéfica e prejudicial na avicultura: revisão. **Society and Development**, v.9, n.7, p.1-26, 2020.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. Sumário: Guia de Aditivos. São Paulo, SP. p.61, 2017.

DOSOKY, W. M.; ZEWEIL, H. S.; H. AHMED, M.; ZAHRAN, S. M.; SHAALAN, M. M.; ABDELSALAM, N. R.; MONEIM, A.; TAHA, E. A.; EL-TARABILY, K. A.; ABD EL-HACK, M. E. Impacts of onion and cinnamon supplementation o natural additives on the performance, egg quality, and immunity in laying Japanese quail. **Poultry Science**, v.100, 2021.

ECDC 2020. European centre for disease prevention and control. antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net). Annual Epidemiological Report. Disponível em https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobialresistance-europe-2019. Acesso em junho de 2023.

EFSA 2020 European Food Safety Authority. Disponível em https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/antimicrobial-resistance. Acesso em fevereiro de 2023.

FACCHI, C. S.; VALENTINI, F. D. A.; PAGNUSSATT, H.; LEITE, F.; DAL SANTO, A.; ANIECEVSKI, E.; ROSSATO, G.; ZACCARON, G.; ALBA, D. F.; MILARCH, C. F.; PETROLLI, R.R.; GALLI, G. M.; SILVA, A. S.; TAVERNARI, F. C.; PETROLLI, T.G. Efeitos de carvacrol microencapsulado e cinamaldeído na digestibilidade alimentar, mucosa intestinal e parâmetros bioquímicos e antioxidantes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.52, 2023.

FASSANI, E. J.; ABREU, M.; T.; SILVEIRA, M.; M.; B.; M. Egg yolk color of commercial laying hens receiving commercial pigment in diet. **Ciência Animal Brasileira**, v.20, p.1-10, 2019.

FDA. New Animal Drugs And New Animal Drug Combination Products Administered In Or On Medicated Feed Or Drinking Water Of Food-Producing Animals: Recommendations For Drug Sponsors For Voluntarily Aligning Product Use Conditions. **Guidence for Industry**, 2013. Disponível em: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/cvm-gfi-213-new-animal-drugs-and-new-animal-drug-combination-products-administered-ormedicated-feed. Acesso em fevereiro de 2023.

FERNANDES, D. P. B.; MORI, C.; NAZARENO, A. C.; PIZZOLANTE, C. C.; MORAES, J. E. Qualidade interna de diferentes tipos de ovos comercializados durante o inverno e o verão. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.67, n.4, p.1159-65, 2015.

- FIESP. Fundação das Indústrias do Estado de São Paulo. Outlook FIESP **Projeções** para o Agronegócio Brasileiro 2028. Disponível em: <a href="http://outlookdeagro.azurewebsites.net/OutLookDeagro/pt-BR">http://outlookdeagro.azurewebsites.net/OutLookDeagro/pt-BR</a>>. Acesso em 06 de fevereiro de 2023.
- FRANZ, C.H. M.; BASER, K. H. C.; HAHN-RAMSSL, I. Herbs and aromatic plants as feed additives: aspects of composition, safety, and registration rules. **Feed Additives**, p.35-56, 2020.
- FREITAS, E. R.; SAKOMURA, N. K.; GONZALEZ, M. M.; BARBOSA, N. A.A.; Comparação de métodos de determinação da gravidade específica de ovos de poedeiras comerciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.5, p.509-12, maio 2004.
- GADDE, U.; KIM, W.; OH, S.; LILLEHOJ, H. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. **Animal Health Research Reviews**, v.18, n.1, p. 26-45, 2017.
- GAO, F.; ZHANG, L.; LI, H.; XIA, F.; BAI, H. PIAO, X.; ZHIYING, S.; CUI, H.; SHI, L. Dietary oregano essential oil supplementation influences production performance and gut microbiota in late-phase laying hens fed wheat-based diets, **Animals**, v.12, p.3007, 2022.
- GARCIA E. A.; MENDES A. A.; PIZZOLANTE C. C.; GONÇALVES H. C.; OLIVEIRA R. P.; SILVA M. A. Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.4, n.1, p.1-7, 2002.
- GHANIMA, M. M. A.; ELSADEK M. F.; TAHA, A. E.; EL-HACK, M. E. A.; ALAGAWANY, M.; AHMED, B. M.; ELSHAFIE, M. M.; EL-SABROUT, K. Effect of housing system and rosemary and cinnamon essential oils on layers performance, egg quality, haematological traits, blood chemistry, immunity, and antioxidant. **Animals**, v.10, n.2, p.245, 2020.
- GHOLAMI-AHANGARAN, M.; AHMADI-DASTGERDI, A.; KARIMI-DEHKORDI, M. Thymol and carvacrol; as antibiotic alternative in green healthy poultry production. **Plant Biotechnology Persa**, v.2, n.1, p.22-25, 2020.
- GIAMPIETRO, A.; SCATOLINI, A.M.; BOIAGO, M.M.; CORÓ, D. M. O.; SOUZA, H. B. A.; SOUZA; P. A.; LIMA, T. M. A.; PIZZOLANTE, C. C. Estudo da metodologia de TBARS em ovos. **Revista Avisite**, n.13, p.18, 2008.
- GUNAL, M.; YAYLI, G.; KAYA, O.; KARAHAN, N.; SULAK, O. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. **Poultry Science**, v.5, p.149-55, 2006.
- HAJATI, H. Application of organic acids in poultry nutrition. **International Journal of Avian & Wildlife Biology**, v.3, n.4, p.324-9, 2018.

- HAN, W.; SAISAI, L.; XUEYUAN, L.; YANGX.; LONGO, F.; XIN, Y. Effects of encapsulated essential oils and organic acids on laying performance, egg quality, intestinal morphology, barrier function, and microflora count of hens during the early laying period. **Poultry Science**, v.98, p.6751-60, 2019.
- HAO, Y., QIU, B., JIA, M., LIU, W., GUO, X., LI, N., DUO, L. TONGCHENG, X. Efeitos da ingestão de ácido alfa linoleico sobre o perfil lipídico sanguíneo: revisão sistemática e metanálise de ensaios clínico randomizados. **Revisões Clinicas em Ciência dos Alimentos e Nutrição**, v.61, p.2894-2910, 2020.
- HAUGH, H. The Haugh Unit for Measuring Egg Quality. **The U.S. Egg & Poultry Magazine**, v.43, p.552-572, 1937.
- HUI, Y.H. Handbook of food science, technology and engineering. v.4. **Boca Raton: Taylor & Francis Group**, 2006.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2021. Disponível em: https://sidra.ibge.gov.br/tabela/74#resultado Acesso em: fevereiro 2023.
- JHA, R.; RAZIB, D.; CARVALHO, S.; MISHRA, P. Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review. **Animals**, v.10, n.10, p.1863, 2020.
- JOLIVET, P.; BOULARD, C.; BEAUMAL, V.; CHARDOT, T.; ANTON, M. Protein components of low- density lipoproteins purified from hen egg yolk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.12, p.4424-9, 2006.
- KANG, X.; ZHANG, X. D.; LIU, G. Accurate detection of lameness in dairy cattle with computer vision: A new and individualized detection strategy based on the analysis of the supporting phase. **Journal of Dairy Science**, v.103, n.11, p.10628-38, 2020.
- KOSCOVA, J.R.; NEMCOVA, S.; GANCARCIKOVA, Z.; JONECOVA, L.; SCIRANKOVA, A.B.; BULECA V. Efeito de dois extratos vegetais e *Lactobacillus fermentum* na colonização do trato gastrointestinal por Salmonella enteric var. Dusseldorf em pintos. **Biologia**, v.61, p.775-8, 2006.
- KUS M. M.; MANCINI, J. Ácidos graxos: eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA). **Série de Publicações Ilsi Brasi**l Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes, v.17, p.1-20, 2010.
- LAFATA, G.; WEBER, P.; MOHAJERI, M. H. Probiotics and the gut immune system: indirect regulation. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v.10, n.1, p.11-21, 2018.
- LAMBO, M. T.; CHANG, X.; LIU, D. The recent trend in the use of multistrain probiotics in livestock production: an overview. **Animals**, v.11, 2021.
- LERMINIAUX, N. A.; CAMERON. A. D. S. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. **Canadian Journal of Microbiology**, v.65, p.34-44, 2019.

- LIMA, P. J. D. O. Extratos etanólicos dos resíduos da manga como antioxidante em rações contendo diferentes fontes lipídicas para poedeiras comerciais em postura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.7, p.714-21, 2013.
- LOUREIRO, J. R.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A. T.; HERDEIRO, M. T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Brasileira de Saúde Pública**, v.34, 2016.
- LV, J.; GUO, L.; CHEN, B.; HAO, K.; MA, H.; LIU Y.; MIN, Y. Effects of different probiotic fermented feeds on production performance and intestinal health of laying hens. **Poultry Science**, v.101, 2022.
- MACIEL, F.F.; PORTÕES, R. S.; TINÔCO, I. F. F.; SOUSA, F. C.; PELLETIER, N.; IBARBURU-BLANC, M. A.; OLIVEIRA, C. E. A. Projeto de Avaliação do Ciclo de Vida da Indústria Brasileira de Ovos. **Animals**, v.13, p.1479, 2023.
- MADHUPRIYA, V.; SHAMSUDEEN, P.; MANOHAR, G. R.; SENTHILKUMAR, S.; SOUNDARAPANDIYAN, V.; MOORTHY, M. Phyto feed additives in poultry nutrition-a review. **International Journal of Evironmental Science and Technology**, v.7, n.3, p.815-22, 2018.
- MENKEM, Z. E.; NGANGOM, B. L.; TAMUNJOH, S. S. A.; BOYOM, F. F. Antibiotic residues in food animals: Public health concern. **Acta Ecologica Sinica**, v.39, n.5, p. 411-15, 2019.
- MEDEIROS, F.M.; ALVES, M.G.M. Qualidade de ovos comerciais. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.11, n.4, p.3515- 24, 2014.
- MIGLIORINI, M. J.; BOIAGO, M. M.; STEFANI, L. M.; ZAMPAR, A.; ROZA, L. F.; BARRETA, M.; ARNO, A.; ROBAZZA, W. S.; GIURIATTI, J.; GALVÃO, A. C.; BOSCATTO, C.; PAIANO, D.; SILVA, A, S.; TAVERNARI, F. C. O óleo essencial de orégano na dieta de poedeiras no inverno reduz a peroxidação lipídica nas gemas e aumenta a vida de prateleira dos ovos. **Jornal de Biologia Térmica**, v.85, 2019.
- MOHAMED, E. A.; H, MOHAMED, T. S.; AHMED, M. S.; HEBA, M. S.; KHALED, A. T. N. M. A.; MAHMOUD, M. A. G.; MUSTAFA, S.; AYMAN, A. S.; AYMAN, E. T.; AMIRA, M.; SYNAN, F. A. Essential oils and their nanoemulsions as green alternatives to antibiotics in poultry nutrition: a comprehensive review. **Poultry Science**, v.101, p. 101584, 2022.
- MUHAMMAD. A. D.; HONG, S. M.; DHANUSHKA, R.; EUN, J. Y.; YE, S. S.; PARQUE, H.; S.; CHUL, J. Y. Egg quality parameters, production performance and immunity of laying hens supplemented with plant extracts. **Animals**, v. 11, p. 975, 2021.
- NASCIMENTO, G.A.J.; COSTA, F.G.P.; AMARANTE JÚNIOR, V.S.; ROCHA, B. Efeitos da substituição do milho pela raspa de mandioca na alimentação de frangos de corte durante as fases de engorda e final. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.1, p.200-7, 2005.

- OBIANWUNA, U. E.; CHANG, X.; WANG, J.; ZHANG, H.; QI, G.; QIU, K.; WU, S. Dietary fructooligosaccharides effectively facilitate the production of high-quality eggs via improving the physiological status of laying hens. **Foods**, v.11, p.1828, 2022.
- OLIVEIRA, J. E.; OLIVEIRA, J.; KRIS-ETHERTON, P. M. Risco de doença cardiovascular do ácido esteárico dietético comparado com trans, outros ácidos graxos saturados e insaturados: uma revisão sistemática. **Revista Americana de Nutrição Clínica**, p.46-63, 2009.
- PANDEY, K. R.; NAIK, S. R.; VAKIL, B. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. **Journal of Food Science and Technology**, v.52, p.7577-87, 2015.
- PANDOLFI, J.R.C. Saúde intestinal em aves comerciais: a importância do microbioma. **Avicultura Industrial**, v.1313, n.113, p.18-23, 2021.
- PARDÍO, V.T.; LANDÍN, L.A.; WALISZEWSKI, K.N.; PEREZ, G. F.; DÍAZ, L.; HERNANDEZ, B. The effect of soybean soapstock on the quality parameters and fatty acid composition of the hen egg yolk. **Poultry Science**, v.84, p.148-57, 2005.
- PASQUALI, G.; PIMENTA, G. Aditivos fitogênicos: uma alternativa ao uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação de aves. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.18, 2014.
- PATTERSON, J.A.; BURKHOLDER, K.M. Application of prebiotic and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, v.82, n.4, p.627-31, 2003.
- PEREIRA, G. V. de M.; COELHO, B. O.; JUNIOR, A. I. M.; SOCCOL, V.T.; SOCCOL, C. R. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. **Biotechnology Advances**, v.36, p.2060-76, 2018.
- PHILLIPS, I. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.53, n.1, p. 28-52, 2003.
- PICCOLO, J. Potencial da semente de nêspera (*Eriobotrya japonica*) na estabilidade oxidativa de produtos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.9, p.1705-10, 2014.
- REIS, T. L.; VIEITES, F. M. Antibiótico, prebiótico, probiótico e simbiótico em rações de frangos de corte e galinhas poedeiras. **Ciência Animal**, v.29, n.3, p.133-47, 2019.
- RIBEIRO, R. C. N.; CORTEZI, A. M.; GOMES, D. E. Utilização Racional de Antimicrobianos na Clínica Veterinária. **Revista Científica Unilago**, v.1, n.1, 2018.
- RICKE, S.C. Impact of prebiotics on poultry production and food safety. **Journal of Biology and Medicine**, v.91, n.1, p.151-9, 2018.
- ROSTAGNO, H. S. ALBINO, L. F. T., DONZELE, J. L., GOMES, P. C., OLIVEIRA, R. D., LOPES, D. C.; EUCLIDES, R. F. Tabela brasileira de aves e suínos composição de alimentos e exigências nutricionais. 2. ed. **Viçosa: Biblioteca UFV**, 2017.

- SANTANA, E. S.; MENDES, F. R.; BARNABÉ, A. C. S.; OLIVEIRA, F. H.; ANDRADE, M. A. Uso de produtos alternativos aos antimicrobianos na avicultura **Enciclopédia Biosfera**, v.7, n.13, p.985-1009, 2011.
- SANDERS, M. E.; MERENSTEIN, D. J.; REID, G.; GIBSON, G. R.; RASTALL, R. A. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.16, p.605-16, 2019.
- SANTOS, T. S.; LOPES, C. C.; JUNIOR, G. M. O.; SANTOS, L. M.; SANTOS, C. C. S.; SOUZA, D. M. The use of cinnamon powder in the diet of Japanese laying quail. Acta Scientiarum. **Animal Sciences**, v.41, 2019.
- SANDHIR, R.; KHAN, M.; CHAHAL, A.; SINGH, I. Localization of nervonic acid boxidation in human and rodent peroxisomes: impaired oxidation in Zellweger syndrome and X-linked adrenoleukodystrophy, **Journal of Lipid Research**, v.39, 1998.
- SCATOLINI-SILVA, A.M.; BORBA, H.; GIAMPIETRO-GANECO, A.; SOUZA, P.A.; BOIAGO, M.M.; MELLO, J.L.M.; Vaz, A.B.S. Qualidade física de ovos armazenados em diferentes condições de embalagens sob temperatura ambiente. **Arquivos de Zootecnia**, v.62, p.238, 2013.
- SHARMA, M. K.; DINH, T.; ADHIKARI. P.A. Production performance, egg quality, and small intestine histomorphology of the laying hens supplemented with phytogenic feed additive. **Journal of Applied Poultry**, v.29, p.362-71, 2020.
- SHEORAN, N.; SHUSHILA, M.; AMAN, K.; KANISHT, B.; DEEPIKA, C.; SAJJAN, S.; VINAY, K.; MAAN, N.S. Probiotic and prebiotic supplementation improving the production performance and immune characteristics of laying hens. **Indian Journal of Animal**, v.10, n.52, p.1433-39, 2018.
- SILVA, B. C.; JESUS, G. F. A.; MARTINS, M. L.; MOURIÑO, J. L. P. Ácidos orgânicos: uma nova ferramenta nutricional para a aquicultura. **Aquaculture Brasil**, p.32-9, 2017.
- SILVA, L.C.P.; SILVA, J.V.L.; MELO, T.S.S.; SILVA, D.R.S.; COSTA, D.G.; VASCONCELOS, T.C.L. Análise *in vitro* da atividade antimicrobiana do extrato de *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry) e óleo essencial de *Origanum vulgare* (Orégano) frente à cepa de *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.9, p.70057-69, 2020.
- SILVA, D. Uso de aditivos equilibradores de microbiota na alimentação de aves comerciais: revisão. **Society and Development**, v.10, n.7, p.1-19, 2021.
- SINGH, N.; RAO, A. S.; NANDALA A.; KUMARB, S.; YADAVA, S. S.; GANAIEA, S. A.; NARASIMHANC, B. Phytochemical and pharmacological review of *Cinnamomum verum* J. Presl-a versatile spice used in food and nutrition. **Food Chemistry**, v.338, p.127773, 2021.

- SOUZA, C.O., VANNICE, G.K., NETO, R.J.C., CALDER, P.C. O ácido palmitoléico é uma estratégia não farmacológica plausível para prevenir ou controlar distúrbios metabólicos e inflamatórios crônico? **Nutrição Molecular e Pesquisa em Alimentos**, 2018.
- STRAPAZZON, J. V. Uso de *blends* à base de ácidos orgânicos e óleos essenciais na produção de frangos de corte. Universidade do Estado de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado, 2021.
- TANG, S. G. H.; SIEO, C. C.; RAMASAMY, K.; SAAD, W. Z.; WONG, H. K.; HO, Y. W. Performance, biochemical and haematological responses, and relative organ weight oflaying hens fed diets supplemented with prebiotic, probiotic and synbiotic. **BMC Veterinary Research**, v.13, n.1, p.1-12, 2017.
- TANNOCK, G. W. Probiotic properties of lactic-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R & D. **Trends in Biotechnology**, v.15, n.7, p.270-4, 1997.
- VASCONCELOS. F.; C.; LEITE, S.; C.; B.; GOMES, T.; C.; L.; GOULART, C.; C.; SOUSA, A.; M.; FONTENELE, G.; S. Ácidos orgânicos, óleos essenciais e simbiótico na dieta de poedeiras semipesadas: desempenho produtivo e análise econômica. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.10, n.3, p.194-200, 2016.
- VILELA, D. R.; CARVALHO, L. S. S.; FAGUNDES, N. S.; FERNANDES, E. A. Qualidade interna e externa de ovos de poedeiras comerciais com cascas normal e 23 vítrea. **Ciências Animal Brasileira**, v.17, n.4, p.509-18, 2016.
- VISENTAINER, J. V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. **Química Nova,** v.35, n.2, p.274-9, 2012.
- WELLMAN-LABADIE, O., PICMAN, J., HINCKE, M. T. Antimicrobial activity of the Anseriform outer eggshell and cuticle. **Bioquímica e Fisiologia Comparativa Parte B: Bioquímica e Biologia Molecular**, v.149, p.640-9, 2008.
- WHO (2020). World Health Organization. Disponível em https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance. Acesso em junho de 2023.
- WOONG, K. J.; HYU, K. J.; YONG, K. D. Dietary organic acids for broiler chickens: a review ácidos orgánicos en la dieta de pollos de engorde. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, v.28, p.109-23, 2015.
- YANG, X.; XIN, H.; YANG, C.; YANG, X. Impact of essential oils and organic acids on the growth performance, digestive functions and immunity of broiler chickens. **Animal Nutrition**, v.4, p.388-393, 2018.
- ZHANG, C.; FAN, L.; FAN, S.; WANG, J.; LUO, T.; TANG, Y. *Cinnamomum cassia;* a review of Its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology. **Molecules**, v.24, p.3473, 2019.

#### Anexo A – COMPROVANTE DO CEUA



Universidade do Estado de Santa Catarina

Comissão de Ética no

Uso de Animais

#### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Fitobióticos: Efeito no Desempenho Zootécnico de Galinhas Poedeiras e na Qualidade dos Ovos ", protocolada sob o CEUA nº 2916260422 (ID 001552), sob a responsabilidade de **Lenita de Cássia Moura Stefani** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 29/04/2022.

We certify that the proposal "Phytobiotics: Effect on the Zootechnical Performance of Laying Hens and on Egg Quality", utilizing 120 Birds (120 females), protocol number CEUA 2916260422 (ID 001552), under the responsibility of Lenita de Cássia Moura Stefani - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was APPROVED by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 04/29/2022.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 06/2022 a 09/2022 Área: Zootecnia

Origem: Animais provenientes de estabelecimentos comerciais

Espécie: Aves RS DA sexo: Fêmeas idade: 15 a 42 semanas N: 120

Linhagem: Hy-Line Brown Peso: 1200 a 2500 g

Lages, 11 de junho de 2023

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

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