

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

SUBPRODUTOS DA ACEROLA NA DIETA DE
FRANGOS DE CORTE

Thainá Landim de Barros

Médica Veterinária

ARAÇATUBA – SP

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

**SUBPRODUTOS DA ACEROLA NA DIETA DE
FRANGOS DE CORTE**

Thainá Landim de Barros

**Orientadora: Profa. Adjunto Elisa Helena Giglio
Co-orientador: Prof. Adjunto Manoel Garcia Neto**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Câmpus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

**ARAÇATUBA – SP
2017**

Catálogo na Publicação(CIP)
Serviço de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Barros, Thainá Landim de

B277s

Subprodutos da acerola na dieta de frangos de corte /
Thainá Landim de Barros.
Araçatuba: [s.n], 2017.
67 f. il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária,
2017

Orientadora: Profa. Adjunto Elisa Helena Giglio
Co-orientador: Prof. Adjunto Manoel Garcia Neto

1. Substâncias para Melhoria do Desempenho. 2.
Antioxidante. 3. Estresse oxidativo. 4. Resíduo industrial. 5.
Frango. I. T.

CDD 636.6

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Subprodutos da acerola na dieta de frangos de corte

AUTORA: THAINÁ LANDIM DE BARROS

ORIENTADORA: ELISA HELENA GIGLIO PONSANO

COORIENTADOR: MANOEL GARCIA NETO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:


Profª. Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO

Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Prof. Dr. PAULO CESAR CIARLINI

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Profª. Dra. ELIZABETH SANTIN

Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Federal do Paraná/UFPR

Araçatuba, 07 de novembro de 2017.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

THAINÁ LANDIM DE BARROS – Nascida em 11 de março de 1992, na cidade de Parapuã/SP. Em 2010, ingressou no curso de Graduação em Medicina Veterinária na Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), tendo concluído a graduação em dezembro de 2014. Durante a graduação, foi bolsista de Iniciação Científica da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processo nº 2011/20531-5, com o projeto intitulado “Morcegos como reservatórios de *Leishmania* spp. em área endêmica para leishmaniose visceral”, de janeiro de 2011 a novembro de 2012, sob orientação da Profa. Adjunto Cárís Maroni Nunes. Foi aluna de Iniciação Científica em Tecnologia de Produtos de Origem Animal, na FMVA-UNESP/Araçatuba, sob orientação da Profa. Adjunto Elisa Helena Giglio Ponsano, de agosto a outubro de 2013. Em agosto de 2015, ingressou no curso de Mestrado em Ciência Animal na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária, Campus de Araçatuba/SP, na área de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal, sob orientação da Profa. Adjunto Elisa Helena Giglio Ponsano. Foi bolsista pela Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão (FUNEP), Processo nº 1106/2016, com o projeto “Desempenho e rendimento de carcaça e partes de frangos de corte, de março a julho de 2016, coordenado pelo Prof. Adjunto Manoel Garcia Neto e foi bolsista de Mestrado da FAPESP, Processo nº 2015/19448-7, com o projeto “Resíduos agroindustriais na criação de frangos de corte”, com início em agosto de 2016, sob orientação da Profa. Adjunto Elisa

Helena Giglio Ponsano. Foi estudante visitante no Departamento de Ciência Animal, na The Ohio State University, em Wooster/Ohio/Estados Unidos, de junho a agosto de 2017.

EPÍGRAFE

*“Lutas, conflitos, perturbações...
Por vezes, é possível que te sintas à frente do mundo,
qual se estivesses no mar tumultuado.
Guarda-te na embarcação da fé e segue na rota que te cabe percorrer.
Deus está no leme.
Age e confia.”*

Autor: Emmanuel

Psicografia de Chico Xavier. Da obra: Livro de Respostas

DEDICATÓRIA

*Dedico aos meus pais, Ivanor e
Angélica, e às minhas irmãs, Thamine e
Lívia.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

Primeiramente a Deus, Meu Pai, que me abençoou com essa vida, sempre iluminando meu caminho e me dando sabedoria e discernimento para chegar até aqui.

Aos meus pais, razões da minha vida, Ivanor e Ana Angélica, que me apoiaram infinitamente em todos os momentos e possibilitaram a realização dos meus objetivos.

Às minhas irmãs, Thamine e Livia, por completarem minha vida e estarem sempre comigo, e ao meu cunhado, Fábio, por ser meu grande irmão.

Aos meus avós, Samuel, Ivoni e Pedrina, e familiares, que sempre torceram por mim.

Aos meus cachorros, Elvis e Pandora, por fazerem a minha vida ser mais leve e linda.

À Profa. Elisa Helena, por todo o companheirismo, amizade e paciência, me ensinando e me apoiando em cada passo, dando suporte em todos os momentos.

Ao Prof. Manoel Garcia Neto, por ter me dado a oportunidade de aprender com ele, pela humildade de compartilhar todo o seu conhecimento, além de ser sempre paciente, amigo, cuidadoso e atencioso comigo.

Ao amigo Laércio Marcon, que em todos os momentos me aconselhou, apoiou e ajudou, dando sempre o seu melhor no trabalho.

Ao amigo Adão Ângelo Custódio, pela essencial e preciosa ajuda durante os experimentos.

Ao grande amigo Rodrigo Vieira Cassiano, por ser meu braço direito e esquerdo, me apoiando e me acalmando diariamente nos experimentos, tornando tudo mais fácil.

Ao Prof. Adj. Marcelo Vasconcelos Meireles por sempre ter me atendido nos momentos de dúvida, me aconselhando e dando suporte durante os experimentos.

À Profa. Ass. Dra. Silvia Helena Venturoli Perri e ao Prof. Adj. Paulo Ciarlini, por terem ajudado nos momentos necessários.

Ao Victor Fonseca, da empresa NUTRA, pelo fornecimento do farelo de subproduto de acerola.

À empresa Profilax, pelo fornecimento da vacina Livacox T®;

À amiga Joselaine e seu esposo Carlos, por toda a ajuda e apoio durante o experimento e às alunas de iniciação científica, Beatriz Delcarme, Juliana Viegas e Beatriz Tavares pela dedicação durante os experimentos.

Às alunas Anelise Bosco e Ariana Ferreira, por toda a disposição e ajuda no experimento.

À bibliotecária Isabel, por toda a paciência e ajuda.

Às minhas eternas companheiras de República, Cynara, Juliana Pampana, Juliana Stephani e Thaís Menegheti. Mesmo longe, estaremos sempre perto.

Aos integrantes da República Barril, em especial ao amigo Eduardo Panelli por estarem comigo desde a graduação, comemorando os momentos alegres e dando suporte nos momentos difíceis.

À amiga Elis, por todo o apoio e companheirismo durante essa jornada.

Às amigas detergentes Tairini, Juliana Masunari, Renata, Laíse, Adriana, Jéssica e Ana Carolina, e ao mel, Carlos Eduardo, por todo o companheirismo, torcida e amizade em todos os momentos.

Às minhas preciosas amigas: Isabela, Naiara, Natália, Maryana, Gabriela e Amanda, pelos momentos de diversão e companheirismo.

À equipe do Laboratório de Alimentos, Helenice, Raquel, Wellington, Thiago, Dayse, Juliana e Juliana Sedlacek pela ajuda durante os experimentos.

À Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão (FUNEP), pela bolsa de estudo (processo nº 1106/2016).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa de mestrado (processo nº 2015/19448-7) e auxílio pesquisa (processo nº 2015/25853-1).

A todo o corpo discente e equipe de funcionários da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), por todo ensino e dedicação durante os anos de Graduação e Pós-graduação.

A todas as pessoas que passaram por minha vida, me trazendo felicidade e crescimento.

SUMÁRIO

Página

SÚMARIO.....	
LISTA DE TABELAS.....	
RESUMO.....	
SUMMARY.....	
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	17
1.Introdução.....	17
2.Revisão de Literatura.....	18
2.1 Produção de frango de corte.....	18
2.2 Qualidade da carne.....	19
2.3 Antioxidantes sintéticos.....	20
2.4 Agentes melhoradores de desempenho.....	21
2.5 Subproduto da acerola.....	23
2.6 Estresse oxidativo.....	24
2.7 Parâmetros bioquímicos.....	26
3.Hipótese geral.....	28
Referências.....	28
 CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO	 37
Abstract.....	37
Introduction.....	38
Material and methods.....	40
Acerola byproduct.....	40
Animals and experimental diets.....	40
Productive performance.....	41
Caecal bacterial population	42
Oxidative rancidity and color of the meat.....	42
Biochemical parameters and antioxidant status.....	42
Statistical analysis.....	44
Results.....	44
Productive performance.....	44
Caecal bacterial population	44

Oxidative rancidity and color of the meat.....	45
Biochemical parameters and antioxidant status.....	45
Discussion.....	45
Acknowledgments.....	50
References.....	50

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO	37
Table 1. Composition of acerola byproduct meal.....	58
Table 2. Composition of the experimental diets.....	59
Table 3. Effects of the experimental diets on feed intake (FI), body weight gain (BWG) and feed conversion (FC) of broiler chickens.....	61
Table 4. Effects of the experimental diets on dressing percent and live weight of broiler chickens.....	62
Table 5. Effects of the experimental diets on the countings of <i>Escherichia coli</i> , mesophilic aerobic bacteria and lactic acid bacteria in the caecal contents of broiler chickens.....	63
Table 6. Oxidative rancidity (mg malondialdehyde/g) in the thighs of broilers fed the experimental diets	64
Table 7. Effects of the experimental diets on breast meat color.....	65
Table 8. Serum biochemical parameters of broiler chickens fed the experimental diets.....	66
Table 9. Effects of the experimental diets on antioxidant and oxidant activities and lipid peroxidation in the serum of broiler chickens.....	67

SUBPRODUTOS DA ACEROLA NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO – O subproduto de acerola é uma rica fonte de compostos bioativos que apresentam alta atividade antioxidante. No presente estudo, o desempenho produtivo, a população microbiana cecal, as características da carne, os parâmetros bioquímicos e a atividade antioxidante e oxidante sérica de frangos de corte alimentados com ração adicionada de farelo de subproduto de acerola (FAC), como um ingrediente alternativo, foram comparados com os mesmos parâmetros de frangos de corte alimentados sem adição de FAC mas com agente melhorador de desempenho (AMD) e antioxidante sintético (AS). As dietas experimentais foram: controle positivo (CP), contendo 0,007% de sulfato de colistina 8% (AMD) e 0,01% de butilhidroxitolueno (BHT) (AS), controle negativo (CN), sem AMD, AS ou FAC, dieta com 5% de FAC (AC 5%) e dieta com 7,5% de FAC (AC 7,5%). Cento e sessenta pintinhos (Cobb 500) foram vacinados com a vacina Livacox T, via ocular e distribuídos aleatoriamente em 16 boxes, com 4 repetições por tratamento, contendo 10 aves em cada. Os animais foram. Parâmetros produtivos foram mensurados semanalmente até 42 dias de idade, quando os animais foram abatidos e a carne, o sangue e o conteúdo cecal foram coletados para as análises de cor/rancidez oxidativa, a contagem da população bacteriana cecal, os parâmetros bioquímicos e o status oxidante/antioxidante sérico. Não houve diferenças para ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar entre os diferentes grupos, assim como para os rendimentos de carcaça e o peso vivo. Apenas o grupo AC 5% apresentou aumento de bactérias lácticas no ceco. A cor do peito e a peroxidação lipídica da coxa não diferiram entre os grupos. Os grupos que receberam FAC apresentaram alta concentração sérica de albumina e proteínas totais, enquanto não houve diferença para as concentrações de globulina e a para a proporção albumina:globulina entre os grupos, assim como para as concentrações séricas de AST, ALT, GGT, creatinina e ácido úrico. O colesterol total foi menor nos animais alimentados com FAC, não diferindo do grupo CP. Os grupos CP, AC 5% e AC 7,5% apresentaram alta capacidade antioxidante total, mas sem diferença para capacidade oxidante total e

peroxidação lipídica. Concluiu-se que a adição de FAC na dieta de frangos de corte melhorou o potencial antioxidante sem prejudicar o desempenho produtivo, a saúde e mantendo a população microbiana cecal e as características da carne. O uso do subproduto de acerola como um ingrediente alternativo na dieta de frangos de corte pode atender a demanda a substituição de AMD e AS na produção de frangos de corte e ainda colabora para a sustentabilidade.

Palavras-Chave: substância para melhoria do desempenho, antioxidante, estresse oxidativo, resíduo industrial, frango,

ACEROLA BYPRODUCTS IN BROILER CHICKENS DIETS

SUMMARY – Acerola byproducts are a rich source of bioactive compounds with high antioxidant activity. In the present study, productive performance, bacterial caecal population, meat characteristics, biochemical parameters and serum antioxidant status of broilers fed acerola byproduct (ACM) as an alternative ingredient were compared with the same parameters of broilers fed diets with no ACM but with antimicrobial growth promoters (AGP) and synthetic antioxidant (SA). The experimental diets comprised: positive control (PC), containing 0.007% colistin sulfate 8% (AGP) and 0.01% butylated hydroxytoluene (BHT) (SA) and no ACM; negative control (NC), without AGP, AS or ACM; diet with 5% ACM (AC 5%); and diet with 7.5% ACM (AC 7.5%). One hundred sixty one day old Cobb 500 male chicks were vaccinated with Livacox T via ocular and randomly distributed into 16 pens. Four repetitions were performed, with ten birds per pen. used in the experiment. Productive parameters were measured weekly until day 42, when the broilers were slaughtered and the meat, the blood and the caecal contents were collected for the analyses of oxidative rancidity and color of the meat, serum oxidant/antioxidant status and caecal bacterial population counts. There were no differences among the treatments regarding to feed intake, body weight gain and feed conversion, as well as to dressing percent and live weight. Only ACM at 5% caused an increase in the caecal lactic bacteria count. Breast color and thigh lipid rancidity did not differ among the groups. Groups fed ACM had higher serum albumin and total protein, although there were no differences in globulin and albumin:globulin ratio among the experimental diets, as well as to serum concentration of AST, ALT, GGT, creatinine and uric acid. Total cholesterol was lower in the animals fed ACM, with no differences to PC. Groups PC, ACM 5% and ACM 7.5% had higher serum antioxidant activity but similar oxidant activity and lipid oxidation. It was concluded that the addition of ACM into broilers diets improved the birds antioxidant status without harming their performance and health and maintaining the caecal microflora and the meat characteristics. The use of acerola byproduct as an alternative

ingredient in broilers feeding may reach the demand for the substitution of AGP and SA in poultry production and still collaborates to sustainability.

Keywords: antibiotic growth promoter, antioxidant, industrial residue, oxidative stress, broiler chicken

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Atualmente a população mundial é de 7,2 bilhões de pessoas e estima-se um aumento para 9,7 bilhões de pessoas em 2050 (UNITED NATIONS, 2015). Um maior aumento de consumo de carnes é observado em países com alta taxa de aumento populacional (OECD; FAO, 2017). Até 2026, projeta-se um aumento de 13% na produção mundial de carnes, sendo a carne de frango a maior responsável por esse crescimento, por ser uma proteína animal mais viável economicamente comparando-se a carnes vermelhas (OECD; FAO, 2017). O milho e a soja, principais alimentos utilizados nas dietas de frangos (YEGANI; KORVER, 2008) e de outros animais, são também utilizados na dieta do homem, criando uma competição pelo uso desses alimentos (CAST, 2013). Além disso, devido à lei de oferta e demanda, os preços dessas *commodities* podem sofrer muitas flutuações, acarretando em aumento dos custos da produção animal, em vista que a dieta representa grande parte do custo total (CNA, 2017).

Com o aumento da população mundial e a necessidade de aumento da produção de alimentos, deve-se começar a pensar na utilização de subprodutos industriais na dieta de animais, caso contrário, a oferta de alimentos para a população será insuficiente para a demanda. A indústria de alimentos, além de atender ao aumento da necessidade dos alimentos, deve também buscar uma produção sustentável, preservando, assim, o ambiente para gerações futuras.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas (REETZ et al., 2015), com previsão de aumento nas exportações em 25% nos próximos anos (FURLANETO; NASSER, 2015). A industrialização de frutas, assim como de outros vegetais, gera grande quantidade de resíduos agroindustriais. A busca por alternativas de descarte de resíduos, viáveis econômica e ambientalmente, é extremamente interessante para a indústria (OLIVEIRA et al., 2009). Uma das possibilidades de reaproveitamento

desses subprodutos é o uso na alimentação animal (MUSTAFA; BAURHOO, 2016), sendo que diversos subprodutos de frutas, como de manga (VIEIRA et al., 2008), uva (VIVEROS et al. 2011) e acerola (ZANETTI et al., 2011) já foram utilizados na dieta de frangos de corte. Além de representarem um ingrediente alternativo às *commodities* nas formulações de dietas animais, o uso desses subprodutos pode beneficiar economicamente a cadeia do processamento de frutas, além de colaborar para uma produção sustentável.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção de frango de corte

A produção mundial de aves continuará fortalecendo sua dominância frente ao complexo de carnes. O curto período de produção permite que sejam feitos ajustes em relação às demandas do mercado, assim como permite rápido progresso na genética, na saúde dos animais e também nas formulações das dietas (OECD; FAO, 2017).

Adicionalmente, a carne de frango foi considerada a fonte de proteína animal preferida pelos consumidores em 2016, sendo que seu consumo aumenta independentemente de região ou nível de renda (OECD; FAO, 2017). Isso pode ser explicado pelo fato da carne de frango representar uma proteína de alto valor biológico, uma carne magra e ser uma proteína de fonte animal de baixo custo (CNA, 2017).

Em 2017, projeta-se que a produção brasileira de frango atingirá 14 milhões de toneladas. Assim, o Brasil se consolidará, pelo segundo ano consecutivo, como segundo maior produtor mundial (CNA, 2017) e espera-se que, até 2026, o país ultrapasse os Estados Unidos nesse *ranking* (OECD; FAO, 2017).

A legislação de muitos países ainda permite a adição de alguns antibióticos como agentes melhoradores de desempenho (AMD) nas rações de frangos de corte,

inclusive os Estados Unidos e o Brasil, os dois maiores produtores mundiais (MARON et al., 2013). Entretanto, com o aumento da conscientização do uso de antibióticos, tem-se notado uma preferência dos consumidores por carnes livres de AMD (OECD; FAO, 2017). Os dados sobre o impacto econômico na produção animal com a restrição ao uso de AMD são limitados; apenas produtores de alguns países, como a Dinamarca e a Suécia, pioneiros no controle dessas substâncias, sugerem que a produção livre de AMD pode ser implantada com mínimas consequências econômicas para a indústria ou para a saúde dos animais (MARON et al., 2013).

2.2 Qualidade da carne

As características sensoriais de um alimento são essenciais para a aceitação do consumidor, sendo algumas decisivas no momento de compra, tais como a cor e o aspecto, outras no momento do consumo, tais como o sabor e o aroma.

A carne crua fresca de frango apresenta um odor característico, que remete ao ácido láctico. Porém, com o armazenamento prolongado, especialmente em condições desfavoráveis, outros odores começam a se desenvolver, em função de reações químicas e enzimáticas, de caráter intrínseco ou de origem microbiana (HORSTEIN; WASSERMAN, 1994). A rancidez oxidativa, por exemplo, resulta em alterações indesejáveis de sabor e odor, além de provocar a redução do valor nutritivo e a formação de substâncias potencialmente tóxicas em alimentos que possuem ácidos graxos insaturados, que são os substratos dessa reação (PEREDA et al., 2005). Essa reação é considerada a principal responsável pela perda de qualidade da carne de frango durante o processamento e o armazenamento (FALOWO et al., 2014).

Para suprir a necessidade energética dos frangos, resultante de constantes aprimoramentos genéticos, é comum a administração de óleos vegetais contendo ácidos graxos (AG) com distintos graus de insaturação nas dietas desses animais, (FELLENBERG; SPEISKY, 2006; LOETSCHER et al., 2013). Nos monogástricos, os ácidos graxos da dieta são absorvidos e depositados nos tecidos sem sofrer modificações significantes (THERON, 2002). Por isso, a administração de ácidos

graxos poli-insaturados (AGPI) na ração das aves representa uma forma de aumentar a concentração desses AG na carne, que são, reconhecidamente, benéficos para a saúde humana (LOETSCHER et al., 2013).

No entanto, o elevado número de ligações duplas dos AGPI torna a carne de frango altamente susceptível à oxidação lipídica (FALOWO et al., 2014; FELLEBERG; SPEISKY, 2006). A reação pode ser minimizada pela presença de antioxidantes, porém, baixas temperaturas não detêm sua ocorrência, que pode se estender durante o armazenamento do alimento em temperaturas de refrigeração ou congelamento (PEREDA et al., 2005).

A cor de um alimento resulta da presença de substâncias coloridas já existentes no produto natural, ou da adição de corantes, sintéticos ou naturais (RIBEIRO et al., 2007). Os carotenoides estão entre os compostos químicos sintetizados por plantas, algas e alguns microrganismos, capazes de conferir cores aos alimentos, que variam do amarelo ao vermelho (BHOSALE; BERNSTEIN, 2005). Em tecidos animais, eles aparecem como consequência da deposição em tecidos-alvos, uma vez que os animais são incapazes de sintetizar seus próprios carotenoides, dependendo totalmente da ingestão pela dieta para seu suprimento (BREITHAUPT, 2007).

Carotenoides podem ser adicionados às dietas animais a fim de melhorar a cor dos produtos e aumentar a atratividade para os consumidores (BAKER; GUNTHER, 2004). Mas, além do papel de corantes de alimentos, a alguns carotenoides podem ser atribuídas propriedades antioxidantes, importantes para diminuir a deterioração do produto causada pela oxidação lipídica (BHOSALE; BERNSTEIN, 2005).

2.3 Antioxidantes sintéticos

A adição de antioxidantes sintéticos (AS) às rações de frangos de corte é comum visando à prevenção da rancificação da ração e, também, da carne (LOETSCHER et al., 2013), além de promover efeitos benéficos para o sistema antioxidante sistêmico do animal (FELLEBERG; SPEISKY, 2006). A legislação brasileira permite o uso de alguns antioxidantes sintéticos, como BHT

(butilhidroxitolueno) (máximo de 1000 mg/kg da dieta total), TBHQ (terc-butilhidroquinona (sem restrições) e BHA (butilhidroxianisol) (máximo de 1000 mg/kg da dieta total) (BRASIL, 2011).

Atualmente, existe uma busca por antioxidantes naturais, devido os efeitos toxicológicos que AS podem causar para a saúde humana e animal (BRENES et al., 2008; KARRE et al., 2013; TAGHVAEI; JAFARI, 2015). Estudos anteriores buscaram avaliar a substituição de aditivos sintéticos na alimentação animal por compostos naturais, como subprodutos de uva e alecrim, avaliando o efeito na diminuição da rancidez oxidativa da carne (LOETSCHER et al., 2013) e também melhora no status antioxidante sérico (BRENES et al., 2008), sugerindo assim que as substâncias naturais, presentes nesses subprodutos, podem apresentar potencial antioxidante semelhante a aditivos sintéticos.

A fim de satisfazer os consumidores que buscam produtos isentos de resíduos prejudiciais à saúde humana, as indústrias avícolas têm especial interesse por antioxidantes naturais que possam substituir os sintéticos (GIANNENAS et al., 2010).

2.4 Agentes melhoradores de desempenho

Os agentes melhoradores de desempenho (AMD) são antibióticos administrados na dieta de animais, em níveis subterapêuticos, para promover crescimento e melhorar a eficiência alimentar (NIEWOLD, 2007). O uso indiscriminado de antibióticos, não só em tratamentos de animais como também de seres humanos, tem aumentado o número de bactérias resistentes a essas substâncias, sendo crescente assim a preocupação com a saúde pública. Dessa forma, tem aumentado a restrição ao uso de antimicrobianos como AMD em dietas de animais (BAURHOO et al., 2007; LILLEHOJ; LEE, 2012; NIEWOLD, 2007).

A União Europeia banuiu a utilização de AMD em 2006 e diversos países também vêm proibindo e/ou restringido seu uso (MARON et al., 2013). A legislação brasileira autoriza o uso de alguns antibióticos como melhoradores de desempenho na formulação de rações para frangos de corte (BRASIL, 2015), dentre eles a

avilamicina, a bacitracina de zinco, o halquinol e a virginamicina. A colistina era permitida na dieta de frangos de corte, de 2 a 10 ppm durante a fase inicial e de 2 a 5 ppm nas fases de crescimento e terminação, sendo o sulfato de colistina 8% administrada de 25 a 125 g/tonelada de ração (BRASIL, 2011). Entretanto, a Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016, proibiu a importação e a fabricação dessa substância em território nacional (BRASIL, 2016).

Para continuar expandindo seu mercado, a indústria nacional deve se adequar às exigências internacionais, o que torna imprescindível a busca por alternativas alimentares que possam agir similarmente aos AMD, sem causar prejuízo ao desempenho produtivo dos animais.

O mecanismo de ação que leva à melhora no desempenho produtivo pelos AMD ainda não é bem elucidado. A teoria mais aceita é que os AMD modificam diretamente a microbiota intestinal (COSTA et al., 2017; DIBNER; RICHARDS, 2005), por meio de mecanismos como redução da competição por nutrientes, diminuição da produção de substâncias deletérias para o hospedeiro pela microbiota intestinal e redução de patógenos oportunistas, o que resulta em um epitélio intestinal mais fino e aumenta a absorção de nutrientes (DIBNER; RICHARDS, 2005).

Todavia, o efeito na microbiota intestinal tem sido contestado (COSTA et al. 2011; NIEWOLD, 2007), onde pesquisadores sugerem que os AMD atuam como imunomoduladores no epitélio intestinal, diminuindo o processo inflamatório e a produção de radicais livres (RL) (NIEWOLD, 2007). Assim, o animal poupa energia para utilizar em processos anabólicos envolvidos no crescimento muscular, além de se tornar menos susceptível a doenças (GESSNER et al., 2016).

Com a retirada dos AMD das formulações dietéticas animais, torna-se necessária a busca por substâncias que possam estimular a saúde animal, beneficiando assim o desempenho produtivo dos mesmos. Alguns estudos avaliaram o efeito de diferentes substâncias, como subprodutos vegetais, extratos de plantas e prebióticos, no desempenho produtivo de frangos de corte, em comparação com AMD. Viveros et al. (2011) compararam subprodutos de uva, na forma de farelo e extrato da semente, com o AMD avoparcina, e observaram que não houve diferença do desempenho produtivo entre a forma farelada e o AMD. Baurhoo et al. (2007)

compararam os prebióticos lignina e mananoligossacarídeos com o AMD virginiamicina e também não observaram diferença na conversão alimentar entre os tratamentos.

2.5 Subproduto da acerola

Os subprodutos da acerola são oriundos do processamento da fruta para a obtenção de polpas, sendo compostos, principalmente, por cascas e sementes. O processamento origina grandes quantidades de resíduos que, frequentemente, são descartados em locais inapropriados, tornando-se uma fonte de poluição para o meio ambiente (CAETANO et al., 2011).

A análise bromatológica do farelo de subproduto de acerola (FAC) mostra que esse produto é rico em fibras, com aproximadamente 43,34% de fibra bruta (ZANETTI et al., 2014). A adição de níveis moderados de fibra na dieta de frangos de corte pode beneficiar a saúde intestinal, o desenvolvimento da moela e a performance dos animais (JIMÉNEZ-MORENO et al., 2016; LOETSCHER et al., 2013; MATEOS et al., 2012).

Além de ser um subproduto rico em fibras, as cascas e as sementes da acerola possuem mais compostos bioativos que a própria polpa (CAETANO et al., 2011; SILVA et al., 2014). Dentre os compostos bioativos, destacam-se os compostos fenólicos. Essas substâncias são oriundas do metabolismo secundário de plantas e contêm um ou mais anéis aromáticos, variando no número de hidroxilas (ABUJAH et al., 2015). Dentre esses compostos, podem ser encontradas altas quantidades de proantocianidinas, ácido ascórbico, flavonóis (catequinas, quercetina e kaempferol) e antocianinas (CORREIA et al., 2011; SILVA et al., 2010). Os compostos fenólicos apresentam diversas atividades biológicas, como antioxidante, antitumoral, antiviral e antimicrobiana (APAK et al., 2007; HUSSAIN et al., OLIVEIRA et al., 2009; VIVEROS et al., 2011). Estudos relatam o benefício da adição de compostos fenólicos na dieta para o desempenho produtivo de animais (STARCEVIC et al., 2014).

Além dos compostos fenólicos, também os carotenoides fazem parte dos compostos bioativos presentes no FAC (SILVA et al., 2014). Há diversos pigmentos carotenoides na acerola, sendo que o β -caroteno, a β -criptoxantina e a luteína os principais encontrados na fruta (MEZADRI et al., 2004; ROSSO et al., 2005). Assim como os compostos fenólicos, os carotenoides apresentam capacidade antioxidante, podendo ambos agir sinergicamente (SURAI, 2007). A alta atividade antioxidante atribuída ao FAC tem sido associada à presença de altas quantidades desses compostos bioativos (CAETANO et al., 2011; CORREIA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2009).

Apesar da reconhecida quantidade de compostos bioativos no FAC, pouco se sabe sobre os efeitos dessas substâncias nos animais, inclusive se estes são capazes de absorver esses compostos. É de se esperar que a atividade antioxidante promovida pelas substâncias fitoquímicas presentes no subproduto da acerola possam auxiliar na diminuição da inflamação e do estresse oxidativo no epitélio intestinal.

2.6 Estresse oxidativo

Substâncias oxidantes são geradas em processos endógenos como também podem ser adquiridas de fontes exógenas (SURAI, 2007; WINTERBOURN, 2008). As principais substâncias oxidantes são algumas espécies reativas de nitrogênio (ERN) e as algumas espécies reativas de oxigênio (ERO), que são radicais livres (RL), substâncias com espécies químicas com um ou mais elétrons desemparelhados, sendo assim altamente instáveis (HARVEY, 2008),

Dentre as fontes endógenas, pode-se citar o metabolismo normal, que constantemente produz RL gerados durante a respiração celular nas mitocôndrias (WINTERBOURN, 2008). Também os metais de transição, essenciais para os organismos, podem produzir RL através da reação de Fenton, que consiste na interação com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) levando à produção do radical hidroxila (FELLENBERG; SPEISKY, 2006; ROCHE et al., 2008). Outro mecanismo gerador de substâncias oxidantes é a fagocitose, principal mecanismo de destruição de

patógenos (SURAI, 2007) exercido por macrófagos. Durante a “explosão respiratória” que a caracteriza, os produtos gerados são tóxicos tanto para as próprias células do hospedeiro quanto para os micro-organismos invasores (WEISS; WALCHECK, 2008).

A principal fonte exógena de substâncias oxidantes é a dieta, principalmente quando contém óleos vegetais ricos em AGPI. Além disso, doenças, vacinações e altas temperaturas são fontes de estresse para os animais, também gerando RL (SURAI, 2007).

O principal mecanismo de ação dos antioxidantes consiste na remoção de RL (FAEHNRIK et al., 2015; FELLEBERG; SPEISKY, 2006) e também no sequestro de metais de transição, inibindo assim a produção de RL (HUSSAIN et al., 2016). O sistema antioxidante é formado por diferentes sistemas: enzimáticos e não enzimáticos, como tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), carotenoides (β -caroteno), ácido úrico, glutatona e polifenóis, além de proteínas que se ligam a metais de transição (APAK et al., 2007; GESSNER et al., 2016; SURAI, 2007).

Apesar dos RL serem essenciais para vários processos fisiológicos e para o combate a micro-organismos (SURAI, 2007), quando o sistema antioxidante não consegue neutralizar o excesso de substâncias oxidantes, inicia-se o estresse oxidativo (APAK et al., 2007; EREL, 2005; GESSNER et al., 2016; HUSSAIN, 2016). O estresse oxidativo tem sido reportado como um dos principais estímulos para o desencadeamento do processo inflamatório (HUSSAIN et al., 2016) e os próprios produtos de células envolvidas na inflamação produzem RL, iniciando-se assim um ciclo vicioso entre estresse oxidativo e inflamação (GESSNER et al., 2016). O excesso de compostos oxidantes pode danificar lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (FELLEBERG; SPEISKY, 2006; HUSSAIN et al., 2016), levando a diversas patologias que prejudicam o crescimento animal (TRAESSEL et al., 2011).

A constante exposição do organismo a compostos oxidantes tem sido relacionada a causa de diversas doenças crônicas (HUSSAIN et al., 2016). Em frangos de corte, devido ao curto período de produção, o aparecimento de doenças crônicas é improvável; entretanto, a inflamação contínua representa um custo energético para o animal, além de ocorrer um aumento da permeabilidade vascular, favorecendo, conseqüentemente, a entrada de moléculas e patógenos na circulação

sistêmica, levando ao aumento da susceptibilidade a doenças (GESSNER et al., 2016). Aumentar a ingestão de antioxidantes dietéticos é considerado a melhor forma para prevenir o estresse oxidativo (SURAI, 2007).

A atividade antioxidante total permite uma visão global do sistema e pode ser mensurada pela análise de biomarcadores, como vitamina E, carotenoides, glutational peroxidase, selênio, entre outros, como também por um conjunto de métodos caracterizados como capacidade antioxidante total (TAC) (RUBIO et al., 2016). A TAC determina a atividade antioxidante em amostras biológicas, em condições pré-estabelecidas, usando diferentes oxidantes em cada caso (APAK et al., 2007). Existem diferentes técnicas para a avaliação da TAC, não existindo, ainda, um método de referência. Dentre os métodos, estão o do cátion ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS) e o de redução do cobre (CUPRAC) (EREL, 2004; RUBIO et al., 2016).

No método ABTS, substâncias antioxidantes presentes na amostra analisada inibem a oxidação dos substratos presentes nos reagentes, impedindo a mudança de cor do meio (EREL, 2004). A técnica de CUPRAC avalia a capacidade da amostra em reduzir Cu^{+2} a Cu^{+1} , na presença de agentes quelantes (RUBIO et al., 2016).

Também não existe uma técnica padrão e de referência para a determinação de substâncias oxidantes. O peróxido de hidrogênio e o hidroperóxido lipídico, que são substâncias altamente oxidantes, são os principais compostos avaliados na determinação da capacidade total oxidante (TOC) (EREL, 2005). O método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) mensura os níveis de malondialdeído e outros produtos finais da peroxidação lipídica (HUNTER et al., 1985). A técnica de TBARS pode ser utilizada tanto para amostras biológicas, como soro, como para amostras de carne.

2.7 Parâmetros bioquímicos

As atividades biológicas promovidas pelos diversos compostos bioativos podem trazer benefícios para a saúde dos animais (ABBASI et al., 2015). A avaliação

dos parâmetros bioquímicos é importante para avaliar o estado de saúde geral das aves (CAMPBELL, 2015; SASIPRIYA; SIDDHURAJU, 2013).

A albumina é uma proteína que possui grande importância biológica, transportando metais, ácidos graxos, colesterol, pigmentos biliares e drogas (ECKERSALL, 2008; ROCHE et al., 2008). Devido ao fato de se ligar a metais de transição e ácidos graxos poli-insaturados, ela é considerada o principal e o mais abundante antioxidante plasmático (ECKERSALL, 2008; ROCHE et al., 2008). Em aves, a albumina corresponde à maior fração das proteínas totais e sua mensuração auxilia no diagnóstico de doenças renais e hepáticas, além de seu aumento ser patognomônico de desidratação (HARR, 2006).

A concentração de proteínas totais é influenciada pelo teor de albumina e globulina e a proporção albumina:globulina (A:G) é clinicamente mais importante para a avaliação de processos inflamatórios que os valores de proteínas totais (LUMEIJ, 2008). Nesses processos, as proteínas de fase aguda e as imunoglobulinas aumentam, enquanto que a albumina diminui, resultando em uma diminuição da proporção A:G (HARR, 2006).

A avaliação do perfil enzimático em aves não fornece uma resposta específica à função de apenas um órgão, sendo possível fazer apenas considerações generalizadas (CAMPBELL, 2015). Os níveis séricos da enzima aspartato aminotransferase (AST) são considerados muito sensíveis para detectar lesões hepáticas, embora a enzima não seja específica, podendo também aumentar em lesões musculares (CAMPBELL, 2015), assim como a mensuração da enzima alanina aminotransferase (ALT), que também auxilia na avaliação de lesão hepática e muscular. A enzima gama-glutamil transferase (GGT) está relacionada a danos nos ductos biliares (HARR, 2006).

Os níveis séricos de creatinina e ácido úrico fornecem uma avaliação geral referente à função renal (LUMEIJ, 2008; SASIPRIYA; SIDDHURAJU, 2013). O ácido úrico é o principal produto final do metabolismo do nitrogênio em aves (LUMEIJ, 2008) e alterações na concentração desse metabólito também podem ser referentes à hidratação do animal. O aumento da creatinina ocorre apenas quando mais de 70% da função renal estiver afetada ou comprometida (LUMEIJ, 2008).

O colesterol é encontrado apenas em animais, não estando presente em plantas e micro-organismos (BRUSS, 2008). O teor de colesterol é afetado por fatores, como genéticos, idade, sexo, condições ambientais, alimentar, sendo que componentes da dieta, como carboidratos e vitamina C, que podem reduzir o colesterol de aves (ABBASI et al., 2015). Na maioria das espécies de aves, a concentração normal de colesterol no plasma varia de 100 a 250 mg/dL (CAMPBELL, 2015).

3. HIPÓTESE GERAL

Investigar se a utilização do FAC como um ingrediente alternativo na dieta de frangos de corte afeta o desempenho produtivo, a qualidade da carne, o estado de saúde das aves e o potencial antioxidante e oxidante no soro de frangos de corte.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, H.; SEIDAVI, A.; LIU, W.; ASADPOUR, L. Investigation on the effect of different levels of dried sweet orange (*Citrus sinensis*) pulp on performance, carcass characteristics and physiological and biochemical parameters in broiler chicken. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, p.139-146, 2015. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- ABUAJAH, C. I.; OGBONNA, A. C.; OSUJI, C. M. Functional components and medicinal properties of food: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 2522-2529, 2015. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- APAK, R.; GUKLU, K.; DEMIRATA, B.; OZYUREK, M.; CELIK, S. E.; BEKTASOGLU, B.; BERKER, K. I.; OZYURT, D. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. **Molecules**, v. 12, p. 1496-1547, 2007. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- BAKER, R.; GÜNTHER, C. The role of carotenoids in consumer choice and the likely benefits from their inclusion into products for human consumption. **Trends in Food**

Science and Technology, v. 15, n. 10, p. 484-488, 2004. Acesso em: 2 de outubro de 2017.

BAURHOO, B.; PHILLIP, L.; RUIZ-FERIA, A. Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 86, p. 1070-1078, 2007. Acesso em: 2 de outubro de 2017.

BHOSALE, P.; BERNSTEIN, P.S. Microbial xanthophylls. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 68, n. 4, p. 445 – 455, 2005. Acesso em: 2 de outubro de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Aditivos melhoradores de desempenho e anticoccidianos registrados na CPAA/DFIP**. 2015. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Alimenta%C3%A7%C3%A3o%20Animal/ADITIVOS%20AUTORIZADOS%20COMO%20MD%20e%20ANTICOCCIDIANOS%202015%20-%2025%20abril%20-%20Portal%20MAPA.pdf>. Acesso em: 5 de setembro de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 45 de 22 de novembro de 2016. Proíbe, em todo o território nacional, a importação e a fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina, com a finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, Distrito Federal, 30 de novembro de 2016, Seção 1, p. 6. Acesso em: 2 de setembro de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Tabela de aditivos autorizados para uso em produtos destinados à alimentação animal- geral com exceção dos antimicrobianos, anticoccidianos e agonistas 2011**. 2011.

Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Alimenta%C3%A7%C3%A3o%20Animal/LISTAGEM%20ADITIVOS%20AUTORIZADOS%20_29_07_2011%20REV.doc>.

Acesso em: 5 de setembro de 2017.

BREITHAUPT, D. E. Modern application of xanthophylls in animal feeding: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, p. 501-506, 2007. Acesso em: 2 de outubro de 2017.

- BRENES, A.; VIVEROS, A.; GOÑI, I.; CENTENO, C.; SAYAGO-AYERDI, S. G.; ARIJA, I.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. **Poultry Science**, v. 87, p. 307-316, 2008. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- BRUSS, J. T. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. cap. 4, p. 81-115.
- CAETANO, A. C. S.; ARAUJO, C. R.; LIMA, V. L. A. G.; MACIEL, M. I. S.; MELO, E. A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) fruit extracts. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v. 31, p. 769-775, 2011. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- CAMPBELL, T.W. Clinical chemistry of birds. In: THRALL, M.A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. cap. 35, p. 509-521. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). Aves. In: CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). **Balanco 2016 Perspectivas 2017**. 2017. Cap. 5, p. 131-134. Disponível em: <<http://www.cnabrazil.org.br/balanco-2016-e-perspectivas-2017>>. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- CORREIA, R. T. P.; BORGES, K. C.; MEDEIROS, M. F.; GENOVESE, M. I. Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. **Food Science and Technology**, v. 18, p. 539-547, 2011. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- COSTA, E.; UWIERA, R. R. E.; KASTELIC, J. P.; SELINGER, L. B.; INGLIS, G. D. Non-therapeutic administration of a model antimicrobial growth promoter modulates intestinal immune responses. **Gut Pathogens**, v. 3, p. 1-15, 2011. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- COSTA, M. C.; BESSEGATTO, J. A.; ALFIERI, A. A.; WEESE, J. S.; FILHO, J. A. B.; OBA, A. Different antibiotic growth promoters induce specific changes in the cecal microbiota membership of broiler chicken. **PLoS ONE**, v. 12, p. 1-13, 2017. Acesso em: 2 de outubro de 2017.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (CAST). Animal feed vs. human food: challenges and opportunities in sustaining animal agriculture toward 2050. CAST, IA, **Issue Paper**, n. 53, 2013.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry Science**, v. 84, p. 634-643, 2005. Acesso em: 2 de outubro de 2017.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. cap. 5, p. 132-135. Acesso em: 29 de agosto de 2017.

EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, v. 38, p. 1103-1111, 2005. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. **Clinical Biochemistry**, v. 37, p. 277-285, 2004. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

FAEHNRIKH, B.; LUKAS, B.; HUMER, E.; ZEBELI, Q. Phytogetic pigments in animal nutrition: potentials and risks. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, doi: DOI 10.1002/jsfa.7478, 2015.

FALOWO, A. B.; FAYEMI, P. O.; MUCHENJE, V. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: a review. **Food Research International**, v. 64, p. 171-181, 2014. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

FELLENBERG, M.A.; SPEISKY, H. Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p.53-70, 2006. Acesso em: 25 de setembro de 2017.

FURLANETO, F. B. P.; NASSER, M. D. Panorama da cultura da acerola no estado de São Paulo. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 12, 2015. Disponível em: <<http://apta regional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2015/janeiro-junho-3/1637-panorama-da-cultura-da-acerola-no-estado-de-sao-paulo/file.html>>. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

GESSNER, D. K.; RINGSEIS, R.; EDER, K. Potential of plant polyphenols to combat oxidative stress and inflammatory processes in farm animals. **Journal of Animal**

Physiology and Animal Nutrition, p. 1-24. doi: 10.1111/jpn.12579, 2016. Acesso em: 20 de setembro de 2017.

GIANNENAS, I.; PAPPAS, I. S.; MAVRIDIS, S.; KONTOPIDIS, G.; SKOUFOS, J.; KYRIAZAKIS, I. Performance and antioxidant status of broiler chickens supplemented with dried mushrooms (*Agaricus bisporus*) in their diet. **Poultry Science**, v. 89, p. 303-311, 2010. Acesso em: 20 de setembro de 2017.

HARR, K. E. Diagnostic value of biochemistry. In: HARRISON, G. J.; LIGHTFOOT, T. L. **Clinical Avian Medicine**. 1. ed. Palm Beach: Spix, 2006. v. 2, cap. 23, p. 611-630. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

HARVEY, J. W. The erythrocyte: physiology, metabolism, and biochemical disorders. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. cap. 7, p. 173-240. Acesso em: 25 de setembro de 2017.

HORSTEIN, I.; WASSERMAN, A. Características organolépticas de la carne. In: PRICE, J.F.; SCHWEIGERT, B. S. **Ciencia de la Carne y de los Productos Carneos**. Zaragoza: Acribia, 1994. cap. 8, p. 249-316. Acesso em: 3 de outubro de 2017.

HUNTER, M.I.; NLEMADIM, B. C.; DAVIDSON, D. L. Lipid peroxidation products and antioxidant proteins in plasma and cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. **Neurochemical Research**, v. 10, p. 1645-1652, 1985.

HUSSAIN, T.; TAN, B.; YIN, Y.; BLACHIER, F.; TOSSOU, M. C. B.; RAHU, N. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us? **Oxidative Medicine Cellular Longevity**, v. 2016, p 1-9, 2016. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

JIMENEZ-MORENO, E.; COCA-SINOVA, A.; GONZALEZ-ALVARADO, J. M.; MATEOS, G. G. Inclusion of insoluble fiber sources in mash or pellet diets for young broilers. 1. Effects on growth performance and water intake. **Poultry Science**, 95:41-52, 2016.

KARRE, L.; LOPEZ, K.; GETTY, K. J. K. Natural antioxidants in meat and poultry products. **Meat Science**, v. 94, p. 220-227, 2013. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

LILLEHOJ, H. S.; LEE, K. W. Immune modulation of innate immunity as alternatives-to-antibiotics strategies to mitigate the use of drugs in poultry production. **Poultry Science**, v. 91, p. 1286-1291, 2012. Acesso em: 15 de setembro de 2017.

LOETSCHER, Y.; KREUZER, M.; MESSIKOMMER, R. E. Oxidative stability of the meat of broilers supplemented with rosemary leaves, rosehip fruits, chokeberry pomace, e entire nettle, e effects on performance and meat quality. **Poultry Science**, v. 92, p. 2938-2948, 2013. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. Cap. 28, p. 839-872. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

MARON, D. F.; SMITH, T. J.; NACHMAN, K. E. Restrictions on antimicrobial use in food animal production: an international regulatory and economic survey. **Globalization and Health**, v. 9, p. 48, 2013.

MATEOS, G. G.; JIMÉNEZ-MORENO, E.; SERRANO, M. P.; LÁZARO, R. P.. Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, p. 156-174, 2012. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

MEZADRI, T.; GALVEZ-PEREZ, A.; HORNERO-MENDEZ, D. Carotenoid pigments in acerola fruits (*Malpighia emarginata* DC.) and derived products. **European Food Research and Technology**, v. 220, p. 63-69, 2005. Acesso em: 20 de setembro de 2017.

MUSTAFA, A. F.; BAURHOO, B. Evaluation of dried vegetables residues for poultry: II. Effects of feeding cabbage leaf residues on broiler performance, ileal digestibility and total tract nutrient digestibility. **Poultry Science**, v. 0, p. 1-6, 2016. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

NIEWOLD, T. A. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. **Poultry Science**, v. 86, p. 605-609, 2007. Acesso em: 20 de setembro de 2017.

OECD; FAO. Meat. In: **OECD-FAO agricultural outlook 2017-2026**. OECD Paris: Publishing, 2017. cap. 3, p. 110-112. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-en>. Acesso em: 2 de outubro de 2017.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; BARROS, M. P.; MANO, C. M.; GOULART, M. O. F. Total phenolic content and free radical

- scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, p. 469-475, 2009. Acesso em: 20 de setembro de 2017.
- PEREDA, J. A. O.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLON, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. C.. Lipídeos. In: PEREDA, J. A. O.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLON, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. C. **Tecnologia de Alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: ARTMED, 2005. cap. 3, p. 33-48. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- REETZ, E. R.; KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; CARVALHO, C.; DRUM, M. **Anuário Brasileiro da Fruticultura 2014**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2015. 104 p. Acesso em: 28 de agosto de 2017.
- RIBEIRO, S. C. A.; RIBEIRO, C. F. A.; PARK, K. J.; ARAUJO, E. A. F.; TOBINAGA, S. Alteração da cor da carne de mapará (*Hypophthalmus edentatus*) desidratada osmoticamente e seca. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 9, n. 2, p.125-135, 2007. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- ROCHE, M.; RONDEUAU, P.; SINGH, N. R.; TARNUS, E.; BOURDON, E. The antioxidante properties of serum albumin. **Federation of European Biochemical Societies**, v. 582, p. 1783-1787, 2008. Acesso em: 2 de setembro de 2017.
- ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from two harvests. **Food Research International**, v. 38, p. 1073-1077, 2005. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- RUBIO, C. P.; TVARIJONAVICIUTE, A.; MARTINEZ.-SUBIELA, S.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J.; CERÓN, J. J. Validation of an automated assay for the measurement of cupric reducing antioxidant capacity in serum of dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 12, p. 1-8, 2016. Acesso em: 2 de outubro de 2017.
- SASIPRIYA, G.; SIDDHURAJU, P. Evaluation of growth performance, serum biochemistry and hematological parameters on broiler birds fed with raw and processed samples of *Entada scandens*, *Canavalia gladiata* and *Canavalia ensiformis* seed meal as an alternative protein source. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, p. 811-820, 2013. Acesso em: 2 de outubro de 2017.

- SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, p. 669-682, 2010. Acesso em: 22 de agosto de 2017.
- SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; GIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398-404, 2014. Acesso em: 22 de agosto de 2017.
- STARCEVIC, K.; KRSTULOVIC, L.; BROZLC, D.; MAURIC, M.; STOJEVIC, Z.; MIKULEC, Z.; BAJIC, M.; MASEK, T. Production performance, meat composition and oxidative susceptibility in broiler chicken fed with different phenolic compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 1172-1178, 2015. Acesso em: 22 de agosto de 2017.
- SURAI, P. F. Natural antioxidants in poultry nutrition: new developments. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON POULTRY NUTRITION, 16, 2007, Strasbourg. **Proceedings...** Strasbourg: World Poultry Science Association, 2007. p. 669-676. Acesso em: 22 de agosto de 2017.
- TAGHVAEI, T.; JAFARI, S. M. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 1272-1282, 2015.
- THERON, K. Research at Stellenbosch university benefit whole poultry industry. **Science in Africa**, abr. de 2002. Disponível em: <<http://www.scienceinafrica.co.za/2002/april/poultry.htm>>. Acesso em: 22 de agosto de 2017.
- TRAESEL, C. K.; LOPES, S. T. A.; WOLKMER, P.; SCHMIDT, C.; SANTURIO, J. M.; ALVES, S. H. Essential oils as substitutes for antibiotic growth promoters in broilers: soroproteins profile and lipid peroxidation. **Ciência Rural**, v. 41, p. 278-284, 2011. Acesso em: 22 de agosto de 2017.
- UNITED NATIONS, DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS, POPULATION DIVISION. **World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance Tables**. Working Paper N. ESA/P/WP. 241. 2015. Acesso em: 22 de agosto de 2017.

VIEIRA, P. A. F.; QUEIROZ, J. H.; ALBINO, L. F. T.; MORAES, G. H. K.; BARBOSA, A. A.; MULLER, E. S.; VIANA, M. T. S. Efeitos da inclusão de farelo de resíduo de manga no desempenho de frangos de corte de 1 a 42 dias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 2173-2178, 2008. Acesso em: 8 de novembro de 2017.

VIVEROS, A.; CHAMORRO, S.; PIZARRO, M.; ARIJA, I.; CENTENO, C.; BRENES, A. Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 90, p. 566-578, 2011. Acesso em: 22 de agosto de 2017.

WEISS, D. J.; WALCHECK, B. Neutrophil function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. Academic Press: San Diego/CA, 2008. cap. 11, p. 331-350. Acesso em: 22 de agosto de 2017.

WINTERBOURN, C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. **Nature Chemical Biology**, v. 4, p. 278-286, 2008. Acesso em: 22 de agosto de 2017.

YEGANI, M.; KORVER, D. R. Factores affecting intestinal health in poultry. **Poultry Science**, v. 87, p. 2052-2063, 2008. Acesso em: 22 de agosto de 2017.

ZANETTI, L. H.; POLYCARPO, G. V.; BRICHI, A. L. C.; BARBIERI, A.; OLIVEIRA, R. F.; SABBAG, O. J.; COOKE, R. F.; CRUZ-POLYCARPO, V. C. Performance and economic analysis of broilers fed diets containing acerola meal in replacement of corn. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 51, p. 224-232, 2014. Acesso em: 22 de setembro de 2017.

CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO: ACEROLA BYPRODUCT IMPROVES THE ANTIOXIDANT STATUS OF BROILER CHICKENS VACCINATED AGAINST COCCIDIOSIS

ABSTRACT Acerola byproducts are a rich source of bioactive compounds with high antioxidant activity. In the present study, productive performance, bacterial caecal population, meat characteristics, biochemical parameters and serum antioxidant status of broilers fed acerola byproduct (ACM) as an alternative ingredient were compared with the same parameters of broilers fed diets with no ACM but with antimicrobial growth promoters (AGP) and synthetic antioxidant (SA). The experimental diets comprised: positive control (PC), containing 0.007% colistin sulfate 8% (AGP) and 0.01% butylated hydroxytoluene (BHT) (SA) and no ACM; negative control (NC), without AGP, AS or ACM; diet with 5% ACM (AC 5%); and diet with 7.5% ACM (AC 7.5%). One hundred sixty one day old Cobb 500 male chicks were vaccinated with Livacox T via ocular and randomly distributed into 16 pens. Four repetitions were performed, with ten birds per pen. used in the experiment. Productive parameters were measured weekly until day 42, when the broilers were slaughtered and the meat, the blood and the caecal contents were collected for the analyses of oxidative rancidity and color of the meat, serum oxidant/antioxidant status and caecal bacterial population counts. There were no differences among the treatments regarding to feed intake, body weight gain and feed conversion, as well as to dressing percent and live weight. Only ACM at 5% caused an increase in the caecal lactic bacteria count. Breast color and thigh lipid rancidity did not differ among the groups. Groups fed ACM had higher serum albumin and total protein, although there were no differences in globulin and albumin:globulin ratio among the experimental diets, as well as to

serum concentration of AST, ALT, GGT, creatinine and uric acid. Total cholesterol was lower in the animals fed ACM, with no differences to PC. Groups PC, ACM 5% and ACM 7.5% had higher serum antioxidant activity but similar oxidant activity and lipid oxidation. It was concluded that the addition of ACM into broilers diets improved the birds antioxidant status without harming their performance and health and maintaining the caecal microflora and the meat characteristics. The use of acerola byproduct as an alternative ingredient in broilers feeding may reach the demand for the substitution of AGP and SA in poultry production and still collaborates to sustainability.

Key words: antibiotic growth promoter, antioxidant, industrial residue, oxidative stress, broiler chicken

INTRODUCTION

The world's population will increase to more than 9.7 billion until 2050 (United Nations, 2015). Many food ingredients utilized in animal feed are part of human diets too, like corn and soy. Therefore, there is a competition for these ingredients. Animal production will have to increase sustainably in the next decades to meet the global demand for animal protein (CAST, 2013).

Acerola byproduct meal (**ACM**) arise from the making of the fruit pulp and are mainly made of peels and seeds. ACM contains large amounts of bioactive substances like phenolic compounds, anthocyanins, flavonoids, proanthocyanidins, carotenoids and vitamin C, which impart it a high antioxidant activity *in vitro* (Caetano et al., 2011; Sousa et al., 2011; Correia et al., 2011).

Animal metabolism constantly generates oxidant substances called free radicals (**FR**) from mitochondrial respiration (Winterbourn, 2008); from Fenton reaction, that is the reaction of transition metal ions with hydrogen peroxide (H_2O_2), leading to the production of deleterious hydroxyl radical (Apak et al., 2007; Roche et al., 2008; Winterbourn, 2008), as well as from the phagocytosis performed by macrophages (Surai, 2007). Oxidant substances may also arise from dietary factors, like the vegetal oils used in the animal feed (Gessner et al., 2016), besides from diseases, vaccination and temperature variations which perform as sources of stress (Surai, 2007).

When the animals' antioxidant system is not capable of neutralizing the excess of oxidant substances, the oxidative stress starts. Although this process is important to the normal organism physiology, it is recognized to cause damage to lipids, proteins and nucleic acids, and to initiate a vicious cycle together with the inflammatory process (Apak et al., 2007; Gessner et al., 2016; Hussain, 2016).

Synthetic antioxidants (**SA**) are commonly added to broiler chicken diets to prevent the lipid rancidity of the feed and, consequently, of the meat (Loetscher et al., 2013) and may also exert a systemic antioxidant function (Fellenberg and Speisky, 2006). However, the toxicological effects that SA can cause to human and animal health have increased the demand for natural antioxidants (Brenes et al., 2008; Karre et al., 2013).

The growing concern about public health regarding to antimicrobial resistance has narrowed the use of antibiotics growth promoters (**AGP**) in animal diets (Baurhoo et al., 2007; Lillehoj and Lee, 2012), what promotes the search for alternatives that stimulate the health without causing damage to the animals'

productive performance. Although AGP have been used since long times, to date, its mechanism of action is not well established. Some studies state that they act by altering the intestinal microbiota (Dibner and Richards, 2005; Costa et al., 2017) and some others state that they act like immunomodulators on the intestinal epithelium, by depressing inflammatory processes and the production of FR (Niewold, 2007; Costa et al., 2011), so allowing the animal to save energy to combat inflammation and decreasing its susceptibility to infections caused by bacteria from the intestine (Gessner et al., 2016).

Considering the need for increasing broiler chicken production and the fruit residues generation, the aim of this study was to evaluate if the bioactive compounds of ACM are capable to affect the broilers productive performance, health and oxidant status well as the meat characteristics.

MATERIAL AND METHODS

Acerola Byproduct

Ground dehydrated acerola byproduct was provided by a company that produces frozen fruit pulp and processes their byproducts. ACM composition (Table 1) was inserted in the Practical Program for Rations Formulation (PPFR) and the diets were formulated according to the nutritional requirements recommended by Rostagno et al. (2011), at 5% and 7.5%, except for pre initial phase (Table 2).

Animals And Experimental Diets

The housing and breeding procedures used were approved by the Ethics Committee on the Use of Animals – UNESP (CEUA/FOA 1058-2015). One

hundred sixty one day old Cobb 500 male chicks were weighed and randomly distributed into 16 pens (0.6 x 1.5 x 3.0 m; high x wide x long) provided with shaving bedding, 400 W heat lights (until 14 days) and eaters and drinkers of adaptable highness. The trial was conducted in a brick made barn acclimatized by an adiabatic evaporative cooling system with negative pressure ventilation during 42 days (Oct to Dec 2016). Pre initial (1 – 7 d), initial (8 – 21 d), growing (22 – 35 d) and final (36 – 42 d) diets and water were supplied *ad libitum* during the raising.

The experimental diets comprised: positive control (**PC**), containing 0.007% colistin sulfate 8% (AGP) (Brasil, 2015) and 0.01% butylated hydroxytoluene (**BHT**; SA) and no ACM; negative control (**NC**), without AGP, BHT or ACM; ACM at 5% (**AC 5%**); and ACM at 7.5% (**AC 7.5%**). All the chicks were vaccinated via ocular against coccidiosis at the first day of life with Livacox T (Biopharm, Jílové u Prahy, Praha-západ, Czech Republic).

Productive Performance

Animals and diets were weighed weekly to provide data on feed intake (**FI**), body weight gain (**BWG**) and feed conversion (**FC**). At the 42nd day, three animals of each repetition (12 animals/treatment) were identified with plastic washers and left on fasting during 8 hours. Birds were weighted and slaughtered according to Brazilian sanitary regulations (Brasil, 1998). Carcass weight was measured after the evisceration and removal of feet, head, neck, viscera and abdominal fat. Dressing percent was calculated from the carcass weight and live weight.

Caecal Bacterial Population

After evisceration, the gastrointestinal tract of one animal from each repetition (4 birds/treatment) was separated. After tying the cecum ends, they were packed in plastic bags and stored in refrigeration until the time for the microbiological analyses. Decimal dilutions in sterile peptone water 0.1% were prepared and the microbial counts were carried out by pour plate from dilutions 10^{-4} , 10^{-5} and 10^{-6} . For the mesophilic aerobic bacteria count it was used Nutrient Agar (KASVI, Curitiba, Paraná, Brazil), with incubation at 35 °C for 24 h; for the lactic bacteria count it was used Man, Rogosa and Sharpe Agar (KASVI), with incubation at 37 °C for 72 h under anaerobiosis and for *Escherichia coli* count it was used MacConkey Agar (KASVI), with incubation at 35 °C for 48 h, followed by biochemical identification using commercial kit Enterokit B (Probac of Brazil, São Paulo, São Paulo, Brazil).

Oxidative Rancidity And Color Of The Meat

Breast muscles from each bird were withdrawn for the analysis of color using the C.I.E. (Commission Internationale de l'Eclairage) lightness (**L***), redness (**a***) and yellowness (**b***) system with a portable colorimeter (Hunterlab model MiniScan XE Plus, Reston, VA, USA), calibrated with white and black standards. The software settings were D65 for the illuminant and 10° for the observer angle. TBARS was analyzed according to Vyncke (1970) after 2 (4 °C) and 7 (-20 °C) days and the results were expressed as mg MDA/g of meat.

Biochemical Parameters And Antioxidant Status

At bleeding time, approx. 3 mL of blood were collected from all animals for the determination of the oxidant and antioxidant activities and for the lipid peroxidation analysis. Total serum antioxidant capacity (**TAC**) was measured by different methodologies: 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) reduction (**ABTS**) (Erel, 2004) and copper reduction (**CUPRAC**) (Rubio et al., 2016), both expressed as mmol Trolox equivalent/L

Serum total oxidant capacity (**TOC**) was analyzed using xylenol orange, according to Erel (2005) and the results were expressed as mmol hydrogen peroxide equivalent/L.

Serum lipid peroxidation was determined by the contents of Thiobarbituric Acid Reactive Substances (**TBARS**), as described by Hunter et al. (1985), using an automatic reader (Robonik, Elisa Plate Analyser, India) at 540 nm and the results were expressed as μ mol malondialdehyde (**MDA**) equivalent/L.

All the biochemical analyses were accomplished in an automated biochemical analyzer (BS-200 Chemistry Analyzer. Mindray Bio-Medical Eletronics Co, Germany), previously calibrated with commercial standards and controls (BioSystems, Barcelona, Spain). Creatinine was determined with a kinetic method (alkaline picrate); uric acid with an enzymatic method (uricase/peroxidase); albumin with the bromocresol green method; total protein by the Biuret method; total cholesterol by an enzymatic method (oxidase/peroxidase); alanine aminotransferase (**ALT**) and aspartate aminotransferase (**AST**) with an UV enzymatic method (according to the International Federation of Clinical Chemistry); and gamma-glutamyl transferase (**GGT**) with an UV enzymatic method (urease/glutamate dehydrogenase). All the

biochemical reactions used commercial reagents (BioSystems, Barcelona, Spain) and were performed at 37 °C, according the manufacturer's directions.

Statistical Analysis

Data were subjected to ANOVA using the General Linear Model (**GLM**) procedures from SAS (version 9.2, SAS Institute, 2008). For productive performance, the pen was considered the experimental unity and for the blood, meat and microbiology analyses each broiler was considered the experimental unity. For the TBARS measurements, two factors (time and diets, 2 x 4) and the interaction of these factors were analyzed. When a significant effect ($P < 0.05$) was detected in ANOVA, the difference between means was analyzed by Duncan's test. Colony forming units were transformed in logarithms before the analysis.

RESULTS

Productive Performance

Data on FI, BWG and FC are presented in Table 3, showing that no significant difference was found among the treatments, during the 42 days, as well as to live weight and dressing percent (Table 4) ($P > 0.05$).

Caecal Bacterial Population

Table 5 presents data on the microbial populations investigated. The lactic acid bacteria counting was higher in animals from group AC 5% and differed from AC 7.5% and PC ($P = 0.024$). Treatments NC, PC and AC 7.5% did not differ

regarding to this group of microorganism ($P > 0.05$). No treatments differed for *E. coli* and mesophilic aerobic bacteria count.

Oxidative Rancidity And Color Of The Meat

Regarding to rancidity, a slight but no significant increase was found over storage time in all treatments ($P > 0.05$; Table 6). However, no effect of the diets was found at any time ($P > 0.05$). No difference was found for breast color among the treatments ($P > 0.05$; Table 7).

Biochemical Parameters And Antioxidant Status

Albumin and total protein concentrations were higher in the animals that received ACM ($P < 0.001$ and $P = 0.008$, respectively; Table 8). Globulin levels and albumin:globulin rates did not differ among the treatments. Total cholesterol was lower in the animals fed ACM ($P = 0.008$), not differing from PC. There were no significant differences for creatinine, uric acid, ALT, AST and GGT among the animals of the different treatments ($P > 0.05$).

Table 9 presents the results on the antioxidant and oxidant activity in the animals' serum. Animals from PC, AC 5% and AC 7.5% showed high antioxidant activity as measured with the ABTS and CUPRAC methodologies ($P = 0.018$ and $P = 0.010$, respectively). TOC and TBARS did not detect any difference among treatments ($P > 0.05$).

DISCUSSION

Prior to the utilization of alternative feed ingredients in the formulation of diets, it is necessary to investigate their effects on the animals' productive

performance. The ACM inclusion levels tested in this study were chosen based on the study performed by Zanetti et al. (2014), who described that FC got linearly worse with the ACM addition (5, 10 and 15% of the diet). Then, we decided to use moderate ACM addition levels and include phytase enzyme, to decrease the antinutritional effects of the feed ingredients (Stefanello et al., 2015).

In the present study, the addition of ACM mainly used as a substitute for the corn, did not impact negatively the FI, the BWG and the FC of the broiler chickens. These results are consistent to previous reports in which byproducts rich in fiber were used to feed broiler chickens (Viveros et al., 2011; Loetscher et al., 2013; Sasipriya and Siddhuraju, 2013; Mustafa and Baurhoo, 2016). The absence of differences in the performance parameters may be related with the good hygienic conditions during breeding and with the absence of sanitary challenges, making unnecessary the use of additives to maximize these parameters (Niewold, 2007; Baurhoo et al., 2007).

The live weight and the dressing percent did not differ among the treatments too, what shows that the fibers did not impair the muscular growth. Previous studies in which byproducts were used in the broiler chicken diets (Loetscher et al., 2013; Sasipriya and Siddhuraju, 2013) did not report injury to the animals' carcass yield too. Therefore, it is suggested that this byproduct can be utilized as a feed ingredient, collaborating to a reduction in the feed cost, which represents around 70% of the animal production cost.

The increase of the lactic bacteria count observed at AC 5% group can be related to the presence of bioactive compounds, since some of these metabolites are absorbed in the lower intestine; however, some others arrive intact in the cecum, working as a substrate to microbial populations (Brenes et al., 2008;

Viveros et al., 2011; Gessner et al., 2016), especially the lactic bacteria, that keeps the ability to metabolize phenolic compounds as an energetic source (Vieira et al., 2017). Nonetheless, the same was not found for the animals fed AC 7.5%, putting in evidence the complexity of the microflora, which results from the interaction among animal genetics, diet composition and environment, and may even vary among animals that receive the same diet (Niewold, 2007; Costa et al., 2011; Brown et al., 2016).

The color of a food item represents the decision factor for almost 85% of food consumers (KaiBai et al., 2016), although the preference for the meat color differs worldwide. In this study, none of the treatments affected the color of the meat, which may be considered a good finding. The slight increase found for the thighs TBARS over the time of storage in all treatments was expected, since refrigeration and freezing do not avoid the lipid oxidation reaction (Pereda et al., 2005). That represents an important result since the oxidative rancidity is harmful to the meat shelf life.

The biochemical parameters evaluation is important to indicate the health status of the animals that received the ACM. Those animals had increased serum albumin concentration comparing with the control groups, although the levels of this protein were within the reference interval (Campbell, 2015). Albumin is considered a protein with high antioxidant activity, due to its ability to connect with transition metals and polyunsaturated fatty acid (Eckersall, 2008; Roche et al., 2008); therefore its increase corroborates the improvement of the antioxidant system caused by ACM. The increase in albumin levels due to dehydration was discarded in the present study since all animals had the same fasting condition, with free access to water.

The total protein increase in groups AC 5% and AC 7.5% can be related to the increase in albumin concentration. No significant difference was observed in the concentration of globulin nor for albumin:globulin ratio, what suggests that the animals did not present acute or chronic inflammation (Harr, 2006; Lumeij, 2008; Campbell, 2015). The absence of differences between the serum concentrations of AST, ALT and GGT enzymes indicates that the animals did not have muscular, liver or gall injuries (Harr, 2006). The uric acid and creatinine levels inside the normality ranges demonstrate that there were not kidney lesions (Lumeij, 2008; Campbell, 2015).

The animals fed ACM presented lower total cholesterol levels. In previous study, Dias et al. (2014) reported that the ingestion of acerola juice in broilers diets caused the improvement of lipids metabolism and correlated that finding with the presence of high bioactive compounds quantities in the juice. The mechanism that causes the hypocholesterolemic effect can be linked with the increase of the fecal excretion of bile acids, provoked by anthocyanins (Liang et al., 2012).

As ACM partially substituted the corn in the diets, it was necessary to add soybean oil to achieve the animals' energy requirements. As soybean oil is highly unsaturated (Loetscher et al., 2013) and, consequently, acts as a good source of oxidants (Gessner et al., 2016), it was expected to find a higher concentration of oxidant species in the serum, as well as a higher lipid peroxidation in the serum and higher oxidative rancidity in the meat (Brenes et al., 2008), but that was not found with TOC and TBARS methods, respectively. Therefore, we may suggest that the antioxidant system of the animals fed ACM was capable of combating the excess of oxidant substances.

The higher antioxidant activity found in the serum of PC animals may be assigned to the presence of both additives, AS and AGP (Fellenberg and Speisky, 2006; Niewold, 2007). As the results for ABTS and CUPRAC did not differ among PC, AC 5% and AC 7.5% it is feasible to admit that the antioxidant activity found in the serum of the animals fed ACM can be assigned to the variety of bioactive compounds present in this byproduct, like phenolic compounds, carotenoids and ascorbic acid (Sousa et al., 2011). That allows us to suggest that the byproduct may act as a substitute for both, AS and AGP.

Oxidative stress results from the unbalance between oxidant and antioxidant systems that may impair lipids, proteins and nucleic acids (Fellenberg and Speisky, 2006; Hussain et al., 2016),. In addition, the oxidative stress is directly linked with chronic inflammation (Gessner et al., 2016), which represents a high energetic cost to the animal, hindering the use of the energy to anabolic processes related to the muscular growth (Niewold, 2007; Costa et al., 2011, Gessner et al., 2016). Moreover, the increase of the intestinal barrier permeability caused by inflammation favours the passage of microorganisms to systemic circulation, so letting broilers susceptible to infection (Gessner et al., 2016).

Faehrich et al., (2015) state that bioactive compounds can promote benefits to the animals' productive performance, well-being and health. Their main antioxidant mechanism is the removal of free radicals initiators and propagators related to the oxidative stress (Fellenberg and Speisky, 2006; Faehrich et al., 2015, Hussain et al., 2016). In our experiment, we verified that the high ACM antioxidant capacity, described *in vitro*, was kept *in vivo*, allowing us the suggestion for the use of this byproduct like a natural antioxidant source to promote benefits to the animal health.

A limiting factor to the discussion about the use of vegetal byproducts in animal feeding is the variation in the composition and content of bioactive compounds, which depends on the plant genetic, solar exposition, ground characteristics and growth conditions, besides the storage and processing conditions after the harvest (Faehnrich et al., 2015; Hussain et al., 2016).

In conclusion, the acerola byproduct used in broiler chickens' diet did not impair the animal growth and carcass yield, did not affect the meat rancidity and color, did not cause damage to the animals' health and still increased the *in vivo* antioxidant activity, Therefore, we can suggest the use of acerola byproduct as an alternative ingredient for feeding broilers, so collaborating to a sustainable production.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank São Paulo State Research Foundation (FAPESP) for the financial support (process numbers 2015/19448-7 and 2015/25853-1), Nutra Company for providing the acerola byproduct meal and Profilax Company for providing the vaccine Livacox T.

REFERENCES

Abbasi, H., A. Seidavi, W. Liu, and L. Asadpour. 2015. Investigation on the effect of different levels of dried sweet orange (*Citrus sinensis*) pulp on performance, carcass characteristics and physiological and biochemical parameters in broiler chicken. Saudi J. Biol. Sci. 22:139-146.

- 346 Amerah, A.M., V. Ravindran, and R.G. Lentle. 2009. Influence of insoluble fibre
347 and whole wheat inclusion on the performance, digestive tract development and
348 ileal microbiota profile of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 50:366-375.
- 349 Apak, R., K. Guclu, B. Demirata, M. Ozyurek, S. E. Çelik, B. Bektasoglu, K. I.
350 Berker, and D. Ozyurt. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant
351 capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molec.*
352 12:1496-1547.
- 353 Baurhoo, B., L. Phillip, and C. A. Ruiz-Feria. 2007. Effects of Purified Lignin and
354 Mannan Oligosaccharides on Intestinal Integrity and Microbial Populations in the
355 Ceca and Litter of Broiler Chickens. *Poult. Sci.* 86:1070-1078.
- 356 Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2015. Aditivos
357 melhoradores de desempenho e anticoccidídeos registrados na CPAA/DFIP.
358 Accessed Out. 2016.
359 <[http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Alimenta%C3%A7%C3%A3o%20](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Alimenta%C3%A7%C3%A3o%20Animal/ADITIVOS%20AUTORIZADOS%20COMO%20MD%20e%20ANTICOC)
360 [Animal/ADITIVOS%20AUTORIZADOS%20COMO%20MD%20e%20ANTICOC](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Alimenta%C3%A7%C3%A3o%20Animal/ADITIVOS%20AUTORIZADOS%20COMO%20MD%20e%20ANTICOC)
361 [CIDIANOS%202015%20-%2025%20abril%20-%20Portal%20MAPA.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Alimenta%C3%A7%C3%A3o%20Animal/ADITIVOS%20AUTORIZADOS%20COMO%20MD%20e%20ANTICOC).>
- 362 Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1998. Portaria nº 210
363 de 10 de novembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção
364 Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. Section 1, DOU, page 226.
- 365 Brenes, A., A. Viveros, I. Goñi, C. Centeno, S. G. Sayago-Ayerdi, I. Arijia, and F.
366 Saura-Calixto. 2008. Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on
367 digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Poult. Sci.*
368 87:307–316.

369 Brown, K., S. J. M. Zaytsoff, R. R. E. Uwiera, and G. D. Inglis. 2016. Antimicrobial
370 growth promoters modulate host responses in mice with a defined intestinal
371 microbiota. *Sci. Rep.* 6:38377.

372 Caetano, A. C. S., C. R. Araujo, V. L. A. G. Lima, M. I. S. Maciel, and E. A. Melo.
373 2011. Evaluation of antioxidante activity of agro-indsutrial waste of acerola
374 (*Malpighia emarginata* D. C.) fruit extracts. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 31:769-775.

375 Campbell, T.W. *Clinical Chemistry of Birds*. 2015. Pages 509-521 in M.A., Thrall;
376 G., Weiser; R. W. Allison, and T. W. Campbell. *Veterinary Hematology and*
377 *Clinical Chemistry*, 2nd ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brazil.

378 Council For Agricultural Science And Technology (CAST). 2013. Animal feed vs.
379 human food: challenges and opportunities in sustaining animal agriculture toward
380 2050. CAST, IA.

381 Correia, R. T. P., K. C. Borges, M. F. Medeiros, and M. I. Genovese. 2011.
382 Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit
383 residues. *Food. Sci. Technol. Int.* 18:539-547.

384 Costa, E., R. R. E. Uwiera, J. P. Kastelic, L. B. Selinger, and G. D. Inglis. 2011.
385 Non-therapeutic administration of a model antimicrobial growth promoter
386 modulates intestinal immune responses. *Gut. Pathog.* 3:1-15.

387 Costa, M. C., J. A. Bessegatto, A. A. Alfieri, J. S. Weese, J. A. B. Filho, and A.
388 Oba. 2017. Different antibiotic growth promoters induce specific changes in the
389 cecal microbiota membership of broiler chicken. *PLoS One* 12:1-13.

390 Dias, F. M., D. D. Leffa, F. Daumann, S. O. Marques, T. F. Luciano, J. C. Possato,
391 A. A. Santana, R. X. Neves, J. C. Rosa, L. M. Oyama, B. Rodrigues, V. M.
392 Andrade, C. T. Souza, and F. S. Lira. 2014. Acerola (*Malpighia emarginata* DC.)
393 juice intake protects against alterations to proteins involved in inflammatory and

lipolysis pathways in the adipose tissue of obese mice fed a cafeteria diet. *Lipids Health Dis.* 13:1-9.

Dibner, J. J., and J. D. Richards. 2005. Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and Mode of Action. *Poult. Sci.*, 84:634-643.

Eckersall, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. 2008. Pages 132-135 in J. J. Kaneko, J. W. Harvey, and M. L. Bruss. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6th ed. Academic Press, San Diego, CA.

Erel, O. 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin. Biochem.* 38:1103-1111.

Erel, O. 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin. Biochem.* 37:277-285.

Faehnrich, B., B. Lukas, E. Humer, and Q. Zebeli. 2015. Phytogetic pigments in animal nutrition: potentials and risks. *J. Sci. Food Agric.* 96:1420-1430.

Fellenberg, M.A., and H. Speisky. 2006. Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. *World's Poult. Sci. J.* 62:53–70.

Gessner, D. K., R. Ringseis, and K. Eder. Potential of plant polyphenols to combat oxidative stress and inflammatory processes in farm animals. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)* 1-24. doi: 10.1111/jpn.12579.

Harr, K. E. Diagnostic value of biochemistry. 2006. Pages 611-630 in *Clinical avian medicine*. G. J. Harrison, and T. L. Lightfoot. 1st ed. Spix, Palm Beach, FL.

Hong, J.-C., T. Steiner, A. Aufy, and T.-F. Lien. 2012. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. *Livest. Sci.* 144:253-262.

- 418 Hunter, M.I., B. C. Nlemadim, and D. L. Davidson. 1985. Lipid peroxidation
419 products and antioxidant proteins in plasma and cerebrospinal fluid from multiple
420 sclerosis patients. *Neurochem. Res.* 10:1645:1652.
- 421 Hussain, T., B. Tan, Y. Yin, F. Blachier, M. C. B. Tossou, and N. Rahu. 2016.
422 Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxid. Med.*
423 *Cell. Longev.* 2016:7432797.
- 424 KaiBai, W., F. J. Zhang, T. J. He, P. W. Su, X. Z. Ying, L. L. Zhang, and T. Wang.
425 2016. Dietary probiotic *Bacillus subtilis* strain fmbj increases antioxidant capacity
426 and oxidative stability of chicken breast meat during storage. *PLoS ONE* 11:1-
427 17.
- 428 Karre, L., K. Lopez, and J. K. Getty. Natural antioxidants in meat and poultry
429 products. 2013. *Meat Sci.* 94:220-227.
- 430 Liang, Y., J. Chen, Y. Zuo, K. Y. Ma, Y. Jiang, Y. Huang, and Z. Y. Chen.
431 Blueberry anthocyanins at doses of 0.5 and 1 % lowered plasma cholesterol by
432 increasing fecal excretion of acidic and neutral sterols in hamsters fed a
433 cholesterol-enriched diet. *Eur. J. Nutr.* doi: 10.1007/s00394-012-0393-6.
- 434 Lillehoj, H. S., and K. W. Lee. 2012. Immune modulation of innate immunity as
435 alternatives-to-antibiotics strategies to mitigate the use of drugs in poultry
436 production. *Poult. Sci.* 91:1286-1291.
- 437 Loetscher, Y., M. Kreuzer, and R. E. Messikommer. 2013. Oxidative stability of
438 the meat of broilers supplemented with rosemary leaves, rosehip fruits,
439 chokeberry pomace, e entire nettle, e effects on performance and meat quality.
440 *Poult. Sci.* 92:2938-2948.

- 441 Lumeij, J. T. Avian clinical biochemistry. 2008. Pages 839-872 in J. J. Kaneko, J.
442 W. Harvey, and M. L. Bruss. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed.
443 Academic Press, San Diego, CA.
- 444 Mateos, G. G., E. Jiménez-Moreno, M. P., Serrano, and R. P. Lázaro. 2012.
445 Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and
446 chemical characteristics. J. Appl. Poult. Res. 21:156-174.
- 447 Mustafa, A. F., and B. Baurhoo. 2016. Evaluation of dried vegetables residues
448 for poultry: II. Effects of feeding cabbage leaf residues on broiler performance,
449 ileal digestibility and total tract nutrient digestibility. Poult. Sci. 0:1-6.
- 450 Niewold, T. A. 2007. The Nonantibiotic Anti-Inflammatory Effect of Antimicrobial
451 Growth Promoters, the Real Mode of Action? A Hypothesis. Poult. Sci, 86:605-
452 609.
- 453 Pereda, J. A. O., M. I. C. Rodriguez, L. F. Alvarez, M. L. G. Sanz, G. D. G. F.
454 Minguillon, L. H. Perales, and M. D. S. C. Cortecero. Lipídeos. 2005. Pages 33-
455 48 in Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos. Pereda,
456 J. A. O., M. I. C. Rodriguez, L. F. Alvarez, M. L. G. Sanz, G. D. G. F. Minguillon,
457 L. H. Perales, and M. D. S. C. Cortecero. Ed. ARTMED, Porto Alegre, Brazil.
- 458 Practical Program for Rations Formulation (PPFR). Accessed Out. 2016. <
459 <http://sites.google.com/site/ppfrprogramforfeedformulation/>>.
- 460 Roche, M.; P. Rondeuau; N. R. Singh, E. Tarnus, and E. Bourdon. 2008. The
461 antioxidante properties of serum albumin. FEBS letters 582:1783-1787.
- 462 Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C.
463 Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto, and R. F. Euclides. 2011. Tabelas
464 brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências
465 nutricionais. 3rd ed. UFV, Viçosa, Brazil.

466 Rubio, C. P., A. Tvarijonaviciute, S. Martinez.-Subiela, J. Hernández-Ruiz, and J.
 467 J. Cerón. 2016. Validation of an automated assay for the measurement of cupric
 468 reducing antioxidant capacity in serum of dogs. BMC Vet. Res. 12:137.
 469 Sasipriya, G., and P. Siddhuraju. 2013. Evaluation of growth performance, serum
 470 biochemistry and haematological parameters on broiler birds fed with raw and
 471 processed samples of *Entada scandens*, *Canavalia gladiata* and *Canavalia*
 472 *ensiformis* seed meal as an alternative protein source. Trop. Anim. Health. Prod.
 473 45:811-820.
 474 SAS Inst. 2008. The SAS System, release 9.2. SAS Institute Inc., Cary:NC.
 475 Silva, L. M. R., E. A. T. Figueiredo, N. M. P. S. Ricardo, I. G. P. Vieira, R. W.
 476 Figueiredo, I. M. Brasil, and C. L. 2014. Gomes. Quantification of bioactive
 477 compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. Food Chem.
 478 143:398-404.
 479 Sousa, M. S. B., L. M. Vieira, M. J. M. Silva, and A. Lima. 2011. Caracterização
 480 nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais.
 481 Ciênc. Agrotec. 35:554-559.
 482 Stefanello, C., S. L. Vieira, G. O. Santiago, L. Kinlein, J. O. B. Sorbara, and A. J.
 483 Cowieson. 2015. Poult. Sci. 94:2472-2479.
 484 Surai, P. F. 2007. Natural antioxidants in poultry nutrition: new developments.
 485 2007. Proc. 16th European Symposium On Poultry Nutrition, Strasbourg, France,
 486 pages 669-676.
 487 United Nations, Department Of Economic And Social Affairs, Population Division.
 488 2015. World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and
 489 Advance Tables. Working Paper No. ESA/P/WP. 241.

- 490 Vieira, A. D. S., R. Bedani, M. A. C. Albuquerque, V. Biscola, and S. M. I. Saad.
491 2017. The impact of fruit and soybean by-products and amaranth on the growth
492 of probiotic and starter microorganisms. *Food R. Int.* 97:356-363.
- 493 Viveros, A., S. Chamorro, M. Pizarro, I. Arijia, C. Centeno, and A. Brenes. 2011.
494 Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut
495 morphology in broiler chicks. *Poult. Sci.* 90:566-578.
- 496 Vyncke, W. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in
497 trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette,*
498 *Seifen, Anstrichmittel*, 72:1084-1087.
- 499 Winterbourn, C. C. 2008. Reconciling the chemistry and biology of reactive
500 oxygen species. *Nat. Chem. Bio.* 4:278-286.
- 501 Zanetti, L. H., G. V. Polycarpo, A. L. C. Brichi, A. Barbieri, R. F. Oliveira, O. J.
502 Sabbag, R. F. Cooke, and V. C. Cruz-Polycarpo. 2014. Performance and
503 economic analysis of broilers fed diets containing acerola meal in replacement of
504 corn. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 51:224-232.

Table 1. Composition of acerola byproduct meal

Item	%
Dry matter	100
Moisture	8.25
Crude protein	12.69
Ether extract	1.41
Ash	2.49
Crude fiber	49.92
Nitrogen free extract	33.50
Neutral detergent fiber	70.59
Acid detergent fiber	64.22
Phosphorus	0.11
Calcium	0.55

Table 2. Composition of the experimental diets¹

[illegible]

EM (kcal/kg)	2960	2960	3050	3050	3050	3050	3150	3150	3150	3150	3200	3200	3200
Crude Protein	24.0	24.0	22.1	22.1	22.6	22.9	20.8	20.8	21.4	21.7	19.5	20.1	20.4
Ca	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.7
Total P	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Total lysine	1.4	1.4	1.3	1.3	1.3	1.3	1.2	1.2	1.2	1.3	1.2	1.2	1.2
Total methionine	0.7	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5
Total threonine	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9	0.8	0.8	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8
Fat	4.3	4.3	4.6	4.6	7.1	8.3	5.6	5.6	8.0	9.3	5.2	8.0	9.3
Crude fiber	3.2	3.2	3.0	3.0	5.4	6.6	2.9	2.9	5.3	6.5	2.7	5.2	6.4

¹PC= positive control, with synthetic antioxidant (0.01% butylated hydroxytoluene (BHT)) and antibiotic growth promoter (AGP; 0.007% colistin sulfate 8%), without acerola byproduct meal (ACM)); NC= negative control, without BHT, AGP and ACM; AC 5%= with the inclusion of 5% of ACM, without BHT and AGP; AC 7.5%= with the inclusion of 7.5% of ACM, without BHT and AGP.

²In the pre starter period, ACM was not provided to any treatment.

³In the finisher period, the controls were just one group, because the antibiotic growth promoter and the synthetic antioxidant were not used..

⁴Antibiotic growth promoter: 0.007% colistin sulfate 8%.

⁵Polimix: vitamin-mineral mix for broiler chickens (Fatec®) supplied the following per kilogram of feed: vitamin (vit.) A 55000.000 UI; vit. D3 1000.000 UI; vit. E 6.500 mg; vit. K3 1.250 mg; vit. B1 500 mg; vit. B2 2.500 mg; vit. B6 750 mg; vit. B12 7.500 mcg; Ca pantothenate 6.500 mg; Niacin 17.500 mg; Biotin 25 mg; Folic acid 250 mg; Mg 32.500 mg; Fe 25.000; Cu 3.000 mg; I 500 mg; Zn 22.500 mg; Co 50 mg; Se 100 mg; Antioxidant 2.000 mg.

⁶ACM: acerola byproduct meal.

⁷BHT: 0.01% synthetic antioxidant butylated hydroxytoluene.

Table 3. Effects of the experimental diets¹ on feed intake (FI), body weight gain (BWG) and feed conversion (FC) of broiler chickens²

Item	Period	PC	NC	AC 5%	AC 7.5%	P-value*	SEM
FI (g/bird)	1 a 7	140	140	140	141	0.999	7.56
	1 a 14	538	583	577	583	0.705	63.44
	1 a 21	1283	1339	1370	1395	0.469	102.04
	1 a 28	2288	2342	2405	2497	0.195	133.28
	1 a 35	3604	3645	3657	3757	0.653	174.41
	1 a 42	5179	5248	5175	5231	0.939	202.26
BWG (g/bird)	1 a 7	116	116	113	114	0.923	8.42
	1 a 14	383	409	415	415	0.472	32.22
	1 a 21	859	912	940	929	0.644	95.83
	1 a 28	1473	1515	1587	1621	0.285	112.80
	1 a 35	2290	2358	2355	2430	0.683	160.89
	1 a 42	3128	3171	3217	3306	0.337	136.09
FC (g feed intake/ g body weight gain)	1 a 7	1.22	1.21	1.25	1.24	0.773	0.06
	1 a 14	1.41	1.42	1.39	1.42	0.992	0.14
	1 a 21	1.49	1.47	1.46	1.53	0.866	0.12
	1 a 28	1.56	1.55	1.51	1.55	0.832	0.07
	1 a 35	1.57	1.55	1.55	1.55	0.948	0.06
	1 a 42	1.66	1.66	1.61	1.59	0.161	0.05

¹PC= positive control, with synthetic antioxidant (0.01% butylated hydroxytoluene (BHT)) and antibiotic growth promoter (AGP; 0.007% colistin sulfate 8%), without acerola byproduct meal (ACM)); NC= negative control, without BHT, AGP and ACM; AC 5%= with the inclusion of 5% of ACM, without BHT and AGP; AC 7.5%= with the inclusion of 7.5% of ACM, without BHT and AGP.

²Values are the average of three birds from four pens/treatment, with the number of birds corrected for mortality.

*Significant effect when $P < 0.05$.

Table 4. Effects of the experimental diets¹ on dressing percent and live weight of broiler chickens²

Item	PC	NC	AC 5%	AC 7.5%	P-value*	SEM
Dressing (%)	74.31	74.82	74.41	74.41	0.671	0.63
Live weight (g)	3112	3172	3272	3345	0.261	168.27

¹PC= positive control, with synthetic antioxidant (0.01% butylated hydroxytoluene (BHT)) and antibiotic growth promoter (AGP; 0.007% colistin sulfate 8%), without acerola byproduct meal (ACM)); NC= negative control, without BHT, AGP and ACM; AC 5%= with the inclusion of 5% of ACM, without BHT and AGP; AC 7.5%= with the inclusion of 7.5% of ACM, without BHT and AGP.

²Values are the average of three bird from four pen/treatment.

*Significant effect when $P < 0.05$.

Table 5. Effects of the experimental diets¹ on the countings of *Escherichia coli*, mesophilic aerobic bacteria and lactic acid bacteria in the caecal contents of broiler chickens²

Item	PC	NC	AC 5.0%	AC 7.5%	P- value	SEM
<i>Escherichia coli</i>	7.82	7.95	8.18	8.05	0.943	0.87
Mesophilic aerobic bacteria	8.47	8.43	8.98	9.11	0.291	0.59
Lactic acid bacteria	8.22 ^b	8.50 ^{ab}	9.38 ^a	8.09 ^b	0.024	0.55

¹PC= positive control, with synthetic antioxidant (0.01% butylated hydroxytoluene (BHT)) and antibiotic growth promoter (AGP; 0.007% colistin sulfate 8%), without acerola byproduct meal (ACM)); NC= negative control, without BHT, AGP and ACM; AC 5%= with the inclusion of 5% of ACM, without BHT and AGP; AC 7.5%= with the inclusion of 7.5% of ACM, without BHT and AGP.

²Values are the average of one bird/repetition, with a total of 4 birds/treatment.
^{a,b}Values in the same row with no common letter are significantly different (P < 0.05).

Table 6. Oxidative rancidity (mg malondialdehyde/g) in the thighs of broilers¹ fed the experimental diets²

Treatments	Malondialdehyde concentration (mg/g of meat)		Mean
	d 2	d 7	
PC	14.40	16.78	15.59
NC	14.49	16.73	15.61
AC 5%	16.73	18.65	17.69
AC 7.5%	14.68	17.17	15.92
Mean	15.07	17.33	
ANOVA		P-value*	
Treatments		0.576	
Days		0.077	
Treatments x Days		0.999	
SEM		21.32	

¹Values are the average of four repetitions, with three birds in each one.

²PC= positive control, with synthetic antioxidant (0.01% butylated hydroxytoluene (BHT)) and antibiotic growth promoter (AGP; 0.007% colistin sulfate 8%), without acerola byproduct meal (ACM)); NC= negative control, without BHT, AGP and ACM; AC 5%= with the inclusion of 5% of ACM, without BHT and AGP; AC 7.5%= with the inclusion of 7.5% of ACM, without BHT and AGP.

*Significant effect when $P < 0.05$.

Table 7. Effects of the experimental diets¹ on breast meat color² of broiler chickens³

Treatments	L*	a*	b*
PC	63.44	5.03	17.02
NC	64.60	5.02	17.20
AC 5%	64.30	4.49	16.62
AC 7.5%	64.12	4.75	16.70
P-value*	0.589	0.226	0.655
SEM	2.12	0.72	1.27

¹PC= positive control, with synthetic antioxidant (0.01% butylated hydroxytoluene (BHT)) and antibiotic growth promoter (AGP; 0.007% colistin sulfate 8%), without acerola byproduct meal (ACM)); NC= negative control, without BHT, AGP and ACM; AC 5%= with the inclusion of 5% of ACM, without BHT and AGP; AC 7.5%= with the inclusion of 7.5% of ACM, without BHT and AGP.

²Breast muscles from each bird were withdrawn for the analysis of color using the C.I.E. (Commission Internationale de l'Eclairage) lightness (L*), redness (a*), and yellowness (b*) system.

³Values are the average of four repetitions, with three birds in each one.

*Significant effect when $P < 0.05$.

Table 8. Serum biochemical parameters¹ of broiler chickens² fed the experimental diets³

Item	PC	NC	AC 5%	AC 7.5%	P-value	SEM
UA (mg/dL)	0.38	0.39	0.40	0.38	0.409	0.03
Creat (umol/L)	6.58	5.98	6.82	6.79	0.139	0.97
ALT (U/L)	113.34	115.75	111.08	122.50	0.614	2.20
AST (U/L)	447.18	449.20	456.70	420.26	0.496	61.34
GGT (U/L)	20.59	22.53	20.88	20.57	0.295	2.88
TP (g/L)	31.18 ^{bc}	30.56 ^c	32.88 ^{ab}	33.43 ^a	0.008	2.23
Alb (g/dL)	1.67 ^b	1.64 ^b	1.77 ^a	1.78 ^a	<0.001	0.09
Glob (g/dL)	1.45	1.42	1.52	1.56	0.342	0.21
Alb:Glob	1.17	1.17	1.18	1.16	0.993	0.18
TC (mg/dL)	156.58 ^a	149.14 ^{ab}	143.02 ^b	138.21 ^b	0.008	13.01

¹UA= uric acid; Creat= creatinine; ALT= alanine aminotransferase; AST= aspartate aminotransferase; GGT= gamma-glutamyl transferase; Alb= albumin; TP= total protein; Glob= globulin; Alb:Glob= albumin:globulin ratio; TC= total cholesterol.

²Values are the average of four repetitions, with three birds in each one.

³PC= positive control, with synthetic antioxidant (0.01% butylated hydroxytoluene (BHT)) and antibiotic growth promoter (AGP; 0.007% colistin sulfate 8%), without acerola byproduct meal (ACM)); NC= negative control, without BHT, AGP and ACM; AC 5%= with the inclusion of 5% of ACM, without BHT and AGP; AC 7.5%= with the inclusion of 7.5% of ACM, without BHT and AGP.

^{a,b}Values in the same row with no common letter are significantly different ($P < 0.05$).

Table 9. Effects of the experimental diets¹ on antioxidant and oxidant activities and lipid peroxidation in the serum of broiler chickens²

Item	PC	NC	AC 5.0%	AC 7.5%	P-value	SEM
ABTS (mmol/L)	0.86 ^a	0.78 ^b	0.84 ^a	0.84 ^a	0.018	0.07
CUPRAC (mmol/L)	0.81 ^a	0.70 ^b	0.78 ^a	0.81 ^a	0.010	0.09
TOS (μmol/L)	120.81	112.77	100.33	118.50	0.334	29.42
TBARS (μmol/L)	12.32	12.68	12.38	15.16	0.507	5.30

¹PC= positive control, with synthetic antioxidant (0.01% butylated hydroxytoluene (BHT)) and antibiotic growth promoter (AGP; 0.007% colistin sulfate 8%), without acerola byproduct meal (ACM)); NC= negative control, without BHT, AGP and ACM; AC 5%= with the inclusion of 5% of ACM, without BHT and AGP; AC 7.5%= with the inclusion of 7.5% of ACM, without BHT and AGP.

²Values are the average of four repetitions, with three birds in each one.

^{a,b}Values in the same row with no common letter are significantly different ($P < 0.05$).