

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 21/05/2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Campus de Botucatu

**ÓLEO DE PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) NA ALIMENTAÇÃO
DE FRANGOS DE CORTE**

JÉSSICA MORAES CRUVINEL

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como
parte dos requisitos para obtenção ao
título de Doutorado

BOTUCATU – SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Campus de Botucatu

**ÓLEO DE PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) NA ALIMENTAÇÃO
DE FRANGOS DE CORTE**

JÉSSICA MORAES CRUVINEL

Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como
parte dos requisitos para obtenção ao
título de Doutorado

BOTUCATU – SP

junho – 2021

C957o Cruvinel, Jéssica Moraes
Óleo de pequi (Caryocar brasiliense Camb.) na alimentação de frangos de corte / Jéssica Moraes Cruvinel. -- Botucatu, 2021
132 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Antonio Celso Pezzato

1. Nutrição animal. 2. Frango de corte. 3. Aditivo fitogênico. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA

Jéssica Moraes Cruvinel, nasceu em Jataí, Estado de Goiás, em 29 de julho de 1991. Ingressou na Universidade Federal de Goiás (UFG – Campus de Jataí), graduando-se em Zootecnia em 2015. Em 2016 ingressou no Mestrado pelo *Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia* (FMVZ – UNESP – Botucatu/SP), na Área de Produção Animal, com foco em Avicultura de Postura, atuando principalmente nos seguintes temas: Manejo e Produção de Poedeiras Comerciais, Codornas Japonesas, debicagem, bem-estar e qualidade de ovos. Em 2018 ingressou no Doutorado pelo *Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia* (FMVZ – UNESP – Botucatu/SP), na Área de Nutrição Animal, com foco em Avicultura de corte, atuando principalmente nos temas: formulação de ração, compostos bioativos, antioxidantes, desempenho de frangos de corte, aditivos fitogênicos, biossegurança e sustentabilidade.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

Nilva Aparecida de Moraes Cruvinel e Moacir dos Santos Cruvinel

Por todo amor, paciência e apoio que são, inegavelmente, o alicerce sobre o qual minha vida tem sido construída.

Aos amigos e parceiros,

Gilson de Campos e Walter Jorge Júnior

Incentivadores incondicionais de minha caminhada em Botucatu.

Com amor e carinho *DEDICO!*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador, *Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato* pelo encorajamento, conselhos e paciência. Obrigada pela confiança, disponibilidade, incentivo, amizade e orientação, o que possibilitou que esta pesquisa fosse realizada.

Ao *Prof. Dr. Otto Mack Junqueira* que me guiou para o caminho da pesquisa. Tive o privilégio de sua contribuição na minha formação acadêmica como zootecnista e sua contribuição generosa no meu desenvolvimento pessoal.

Vocês são e serão parte de minha vida, sempre que eu transmitir os conhecimentos que recebi!
Muito Obrigada. Eu admiro-os muito!

Aos amigos: *Cassio, Fernanda, Priscila, Tatiane, Igor e William*. Agradeço imensamente pelo companheirismo durante esta longa fase, pela amizade, pelas conversas e divertidos momentos.

AGRADECIMENTOS

À *Deus* por me dares a mão como um Pai amoroso que jamais abandona seus filhos.

Ao *Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/ Botucatu*, pela oportunidade e suporte para a obtenção do título de Doutora.

À *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)* – código de financiamento 001, pela concessão de bolsa de estudo.

À *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)* pela concessão do auxílio regular que permitiu a realização desta pesquisa, processo: 2018/25363-2

Aos professores e funcionários do *Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal* da FMVZ/UNESP/Botucatu pelo acolhimento e ajuda oferecida.

Ao *Dr. Leonardo Henrique Zanetti* por ser o incentivador deste estudo.

Aos *Funcionários da Supervisão de Fazendas de Ensino, Pesquisa e Produção* da FMVZ/UNESP/Botucatu e da *Fábrica de Ração* pelos serviços prestados.

Ao *Laboratório de Bromatológica* da FMVZ-UNESP/Botucatu pelo auxílio nas análises e disponibilidade no processamento das amostras.

A equipe de trabalho do *Laboratório de Nutrição de frangos de corte (LabAves)* da FMVZ/UNESP/Botucatu Prof. Dr. José Roberto Sartori, Cássio, Julianna, Erica, Tatiane, Priscila, Fernanda, Giovanna e Andrey pela ajuda, apoio e parceria.

Ao *Wanderley Thiago da Silva*, Técnico do LabAves, que muito contribuiu para a execução deste trabalho, além de todo apoio para nossa equipe.

Aos estagiários do *Laboratório de Nutrição de frangos de corte (LabAves)* da FMVZ/UNESP/Botucatu, entre novos e antigos pela participação, ajuda e aos bons momentos.

Ao *Laboratório AquaNutri* pela contribuição nas análises experimentais e pela amizade construída.

A *Prof. Dra. Margarida Maria Barros* pôr ceder seu laboratório para realização das análises de enzimas do sistema antioxidante.

Ao *Prof. Dr. Roberto de Oliveira Roça* pôr ceder seu laboratório para realização das análises de qualidade de carne. Agradeço em especial *Dr. Carolina, Evelyn e Iasmin* por toda ajuda durante este processo de análise.

Aos alunos de iniciação científica *Beatriz, Murillo e Pedro* pela ajuda durante o processo experimental e sem dúvida, pela disponibilidade de aprendizado e interesse à pesquisa.

Ao Prof. Dr. *Samir Moura Kadri* pelo incentivo, disponibilidade e participação nas coletas e análises de expressão gênica.

Ao Instituto de tecnologia (IBTEC) e Prof. Dr. *Paulo Eduardo Martins Ribolla* pelo suporte e por ceder o laboratório para análise

A Prof. *Camila Renata Corrêa* pelo auxílio e apoio total nas análises de composição de carotenoides.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da FMVZ/UNESP/Botucatu, *Ellen Cassemiro Guilhen e Cláudia Cristina Moreci*, pela paciência, consideração e esclarecimentos.

Aos professores *Margarida Maria Barros e Marcos Livio Panhoza Tse* por todas contribuições no Exame Geral de Qualificação.

Aos professores *Lucio Francelino Araújo, Leonardo Henrique Zanetti, Samir Moura Kadri, José Roberto Sartori* por todas as contribuições na banca de defesa.

E aos meus *irmãos* de vida pela união e amor em cada caminhada nesses cinco anos em Botucatu, *Evelyn, Raimundo, Andressa, Igor, Willian, Caio, Tatiane, Guilherme, Iasmin, Marcone, Lucas, Vinicius, Patrícia, Priscila, Cássio, Andrey, Bruna, Fernanda, Bismarck, Gilson, Walter, Matheus, Edgar, Carol, Leonardo, Carlos, Alana*.

Muito obrigada a todos!



E eu apenas Floresci

RESUMO GERAL

O pequi (*Caryocar brasiliense* camb.) é um fruto nativo do cerrado brasileiro e do qual pode-se extrair o óleo de pequi, apresentando coloração alaranjada e alto teor de carotenoides com propriedades antioxidantes. Diante disso, dois ensaios experimentais foram realizados com o objetivo de avaliar os efeitos da adição do óleo de pequi na alimentação de frangos de corte como aditivo antioxidante e alternativo ao uso de antibióticos como melhoradores de desempenho (AGP). No **Ensaio I** foram utilizados 400 pintainhos ($47,5 \pm 1.27\text{g}$) machos, da linhagem Cobb® 500, os quais foram alojados em duas câmaras climáticas. O delineamento foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2×5 , duas salas com temperatura controlada (sala termoneutra - TN; sala de estresse por calor – HS 8h/dia) e 5 níveis de óleo de pequi (PO): 0,0; 1,5; 3,0; 4,5 e 6,0 g/kg da dieta, com 8 repetições e 5 aves cada. No **Ensaio II** foram utilizados 1440 pintainhos ($43,70 \pm 0.70\text{ g}$), machos Cobb®500 criados de 1 a 42 dias de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos: controle positivo (com AGP; sem PO), negativo (sem AGP; sem PO) e quatro níveis de inclusão de PO de 1,5; 3,0; 4,5; 6,0 g/kg, e 8 repetições com 30 aves por unidade experimental. **Ens. I:** Não houve interação dos fatores nos parâmetros sanguíneos. A concentração plasmática de glicose, triglicerídeos e HDL foram maiores nas aves submetidas ao HS aos 21 dias de idade. As aves alimentadas com PO reduziram linearmente AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase), e os níveis de MDA foram reduzidos linearmente nas aves submetidas ao HS. Além disso, o PO reduziu em 92% a expressão de Hsp70 no fígado em comparação ao tratamento TN sem PO, principalmente no nível de 6,0 g / kg PO. Os níveis de Nrf2 no fígado foram superiores (58,5%) no tratamento 6,0 g / kg de nível de PO, em comparação com o tratamento HS sem PO. **Ens. II:** A conversão alimentar e o Índice de Produtividade Europeu foram linearmente melhores com níveis crescentes de PO. Os tratamentos não influenciaram o perfil bioquímico sérico, peso de órgão, função hepática, rendimento de cortes e a qualidade de carne, e estes parâmetros foram semelhantes ao tratamento com AGP. Os frangos de corte alimentados com PO, independentemente do nível, reduziram a concentração de MDA no plasma, e reduziu linearmente a peroxidação lipídica da carne de peito avaliada após 90 dias de armazenando sob refrigeração. Em conclusão, os níveis de PO, principalmente o nível 6,0g/kg, aliviaram a peroxidação lipídica no plasma e na carne, o que também está relacionado com a modulação na expressão dos genes Hsp70 e Nrf2 pelo PO, desta forma, o óleo de pequi pode ser utilizado como um promissor aditivo antioxidante e alternativo ao uso de antibióticos em rações para frangos de corte.

Palavra-chave: antibióticos, carotenoides, estresse térmico, expressão gênica, peroxidação lipídica

ABSTRACT

Pequi (*Caryocar brasiliense* camb.) is a native fruit of the Brazilian cerrado and from which pequi oil can be extracted, showing orange color and high content of carotenoids with antioxidant properties. Therefore, two experimental studies were carried out in order to evaluate the effects of adding pequi oil to broiler chicken diet as an antioxidant additive and alternative to the use of antibiotics growth promoter (AGP). **Experiment I-** A total of 400 one-day-old male broiler chicks (Cobb 500) were randomly assigned in 2×5 factorially arranged treatments: two temperature-controlled rooms (thermoneutral - TN or heat stress - HS for 8 h/day) and five dietary PO levels (0, 1.5, 3.0, 4.5, or 6.0 g/kg diet) for 42 days. Each treatment consisted of eight replicates of five birds. **Experiment II-** A total of 1,440 one-day-old Cobb500 broilers were randomly distributed into six dietary treatments with eight replicate pens per treatment and 30 birds per pen. The dietary treatments were as follows: 1) basal diet + Avilamycin at 0.05 g/kg diet and no PO (AGP- antimicrobial growth promoter), 2) basal diet without antibiotic and PO (control, CON), 3) CON + 1.5 g/kg PO, 4) CON + 3.0 g/kg PO, 5) CON + 4.5 g/kg PO, and 6) CON + 6.0 g/kg PO. **Exp I:** There was no interaction of factors on blood parameters. The plasma concentrations of glucose, triglycerides and HDL were higher in birds submitted to HS at 21 days of age. Birds fed with PO linearly reduced AST (aspartate aminotransferase) and ALT (alanine aminotransferase), and MDA levels were linearly reduced in birds subjected to HS. In addition, PO reduced Hsp70 expression in liver by 92% compared to TN treatment without PO, mainly at the level of 6.0 g/kg PO. Liver Nrf2 levels were up-regulated (58.5%) in the 6.0 g/kg PO level treatment compared to the HS treatment without PO. **Exp II:** feed conversion ratio and the European Performance Index improved linearly with levels of dietary PO. The treatments did not influence the serum biochemical profile, organ weight, liver function, carcass yield and meat quality, and these parameters were similar to the treatment with AGP. Broilers fed with PO, regardless of the level, reduced the concentration of MDA in plasma, and linearly reduced the lipid peroxidation of breast meat evaluated after 90 days of storage under refrigeration. In conclusion, the PO levels, mainly the 6.0g/kg level, alleviated lipid peroxidation in plasma and meat, which is also related to the modulation in the expression of the Hsp70 and Nrf2 genes by PO, thus, the pequi oil can be used as a promising potential feed additive in broiler production.

Keywords: antibiotics, carotenoids, heat stress, gene expression, lipid peroxidation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 Caracterização física do pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> camb.) Fonte: Leão, et al. (2017)	23
Figura 2- Obtenção do óleo de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> camb.) Fonte: Cooperativa Grande Sertão - Montes Claros /MG)	26
Figura 3- Estrutura química de carotenoides. Adaptado de Ribeiro et al., 2018	29
Figura 4 – Produção de EROS mitocondrial e sistemas antioxidantes. Adaptado de Donegan, Braganza e Shiva, 2020	32
Figura 5 – Reações de peroxidação lipídica. Adaptado de ZHANG et al., (2020).....	34
Figura 6 – Aditivos fitogênicos como indutores da via de transcrição Nrf-2 em frangos de corte. Adaptado de CARDOZO et al., (2013).....	49
Tabela 1 - Composição de carotenoides na polpa de pequi (<i>C. brasiliense</i> camb.).....	28
Gráfico 1 - Produção extrativista do Pequi no Brasil.....	24

CAPÍTULO 2

Figure 1. Effect of PO on Hsp 70(A) and Nrf2(B) expression in broiler liver at 42 days. Each bar represents the mean±SEM (n=4). Bars not sharing the same letters (a-c) are significantly different according to Kruskal-Wallis test at $P \leq 0.05$. 0.0 TN=normal temperature + a control diet; 0.0 HS=high ambient temperature + a control diet; PO=pequi oil; 1.5 HS=high ambient temperature + a control diet supplemented with 1.5 g PO/kg diet; 3.0 HS=high ambient temperature + a control diet supplemented with 3.0 g PO/kg diet; 4.5 HS=high ambient temperature + a control diet supplemented with 4.5 g PO/kg diet; 6.0 HS=high ambient temperature + a control diet supplemented with 6.0 g PO/kg diet.....	100
--	-----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Table 1. Fatty acid and carotenoid composition of pequi oil (<i>C. brasiliense</i> Camb.)... 88	88
Table 2. Ingredients and chemical composition of the experimental diets (pre-starter diets, provided during days 1–7; Starter diets, provided during days 8–21)..... 89	89
Table 3. Ingredients and chemical composition of the experimental diets (grower diets, provided during days 22–35; finisher diets, provided during days 36–42)..... 90	90
Table 4. Averages and standard deviations for temperature and relative humidity in the thermoneutral (TN) and heat stress (HS) ambient temperature environments 91	91
Table 5. Primer sequences used for real-time PCR 92	92
Table 6. Effects of temperature and dietary pequi oil (PO) level on serum biochemical indices in broilers exposed to heat stress 93	93
Table 7. Effects of temperature and dietary pequi oil (PO) level on blood leukocyte profile in broilers exposed to heat stress at 42 days of age..... 95	95
Table 8. Effects of temperature and dietary pequi oil (PO) level on relative organ weights (%) in broilers exposed to heat stress 96	96
Table 9. Effects of temperature and dietary pequi oil (PO) level on antioxidant enzyme activity in broilers exposed to heat stress at 42 days of age 98	98
Table 10. Effects of temperature and dietary pequi oil (PO) level on serum MDA concentration in broilers exposed to heat stress at 42 days of age 99	99

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets (Pre-starter diets, provided during days 1–7; Starter diets, provided during days 8–21).....	121
Table 2. Ingredients and chemical composition of the experimental diets (Grower diets, provided during days 22–35; Finisher diets, provided during days 36–42).....	122
Table 3. Effect of dietary pequi oil (PO) levels on growth performance of broiler chickens	123
Table 4. Effects of dietary pequi oil (PO) levels on serum biochemical indices and serum oxidation in broiler chickens	124
Table 5. Effect of dietary pequi oil (PO) levels blood leukocyte profile of broiler chickens	125
Table 6. Effects of dietary pequi oil (PO) levels on the relative organ weights of broilers chickens	126
Table 7. Effects of dietary Pequi oil levels on carcass characteristics of broilers chickens	127
Table 8. Effect of dietary pequi oil (PO) levels on breast meat quality of broiler chickens at 42-days	128
Table 9. Effect of dietary pequi oil (PO) levels on lipid oxidation of breast meat of broilers chickens after storage	129

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
CAPÍTULO 1.....	18
REVISÃO DE LITERATURA	18
1. A excelência avícola mundial e brasileira	19
2. Pequi: o ouro do cerrado	22
3. Óleo de pequi – ação antioxidante	25
3.1 Carotenoides	28
3.2 Espécies reativas de oxigênio e Peroxidação Lipídica	30
3.3 Ação antioxidante dos CARS frente aos EROS	35
4. Uso de Aditivos fitogênicos na alimentação de frangos de corte	37
4.1 Qualidade de carne	39
5. Estresse térmico na produção avícola – aditivos fitogênicos como estratégia nutricional	40
5.1 Aditivos fitogênicos como estratégia nutricional ao estresse térmico	44
6. Técnicas moleculares na área da nutrição avícola	45
6.1 Hsp 70 e Nrf-2.....	46
7. Objetivo Geral	50
7.1 Objetivos específicos.....	50
8. Referências	51
CAPÍTULO 2.....	65
“Pequi Oil (<i>Caryocar brasiliense</i> camb.) Attenuates Adverse Effects of Cyclical Heat Stress and Modulates Oxidative Stress-Related Genes in Broiler Chickens”	66
INTRODUCTION	67
MATERIALS AND METHODS	69
<i>Pequi oil (Caryocar brasiliense camb.).....</i>	<i>69</i>
<i>Chicks, Housing and Management</i>	<i>70</i>
<i>Experimental Diets and Heat challenge</i>	<i>70</i>
<i>Blood Parameters and Determination of Serum MDA</i>	<i>71</i>
<i>Organ Weight</i>	<i>72</i>
<i>Measuring Activities of Antioxidant Enzymes in the Liver</i>	<i>73</i>

<i>RNA Extraction and Quantitative Real-Time PCR Analysis</i>	73
<i>Statistical Analysis</i>	74
RESULTS	75
<i>Blood Parameters</i>	75
<i>Relative Organ Weight</i>	76
<i>Antioxidant Activities of Liver Enzymes and Serum Lipid Peroxidation</i>	76
<i>Heat Shock Protein 70 and Nrf2 Expression in the Liver</i>	77
DISCUSSION	77
REFERENCES	82
CAPÍTULO 3	101
“Growth Performance, Blood Indices, Antioxidant Status, Relative Organ Weights, Carcass Yield and Meat Quality in Broiler Chickens Fed Pequi Oil (<i>Caryocar brasiliense</i> camb.)”	102
1. Introduction	103
2. Materials and methods	105
2.1 <i>Composition of Pequi Oil</i>	105
2.2 <i>Birds, Experimental Design, Housing, and Diets</i>	105
2.3 <i>Growth Performance</i>	106
2.4 <i>Blood Biochemical Indices and Organ Weight</i>	107
2.5 <i>Leukocyte Profile and Plasma Oxidative Status</i>	107
2.6 <i>Carcass Yield and Breast Meat Quality</i>	108
2.7 <i>Lipid Oxidation Evaluation</i>	109
2.8 <i>Statistical Analysis</i>	109
3. Results	110
3.1 <i>Effects of Pequi Oil on Broiler Growth Performance</i>	110
3.2 <i>Effects of Pequi Oil on Serum Biochemical Indices, Blood Leukocyte Profile, and Oxidative Status</i>	111
3.3 <i>Effects of Pequi Oil on Relative Organ Weights, Carcass Yield, and Breast Meat Quality</i>	111
3.4 <i>Effect of Pequi Oil on MDA Concentrations of Breast Meat in Broilers after Storage</i>	111
4. Discussion	112
<i>Growth performance</i>	112
<i>Blood Indices, Relative Organ Weight and Serum MDA Concentrations</i>	112

<i>Carcass Yield, Meat Breast Quality and Meat MDA Concentration</i>	113
5. Conclusions	115
References	115
CAPÍTULO 4.....	130
IMPLICAÇÕES	131

1. INTRODUÇÃO

O Brasil tem grande participação mundial na indústria de carne de frango, classificando-se como terceiro maior produtor com 13,845 milhões de toneladas e líder absoluto na exportação com 4,231 milhões de toneladas de carne exportadas no ano de 2020 (ABPA, 2021), portanto é um seguimento que constantemente busca aperfeiçoar o melhoramento, a sanidade, a ambiência e o bem-estar dos animais no sistema produtivo, e consequentemente, a qualidade do alimentos e seus subprodutos oferecidos ao mercado consumidor.

A proibição do uso de antimicrobianos (antibióticos e quimioterápicos) em rações para animais monogástricos pela União Europeia desde 2006 e a preocupação pública com a segurança do alimento impulsionaram a pesquisa por ingredientes alternativos como por exemplo, o uso de aditivos alternativos, que suplementados como parte das dietas de frangos de corte podem melhorar a eficiência alimentar, manter o equilíbrio redox, auxiliar na estabilidade oxidativa da carne, principalmente inibindo a oxidação lipídica de ácidos graxos insaturados, resultando em maior vida útil durante o armazenamento (*shelf-life*), além de contribuir na manutenção da saúde das aves (MEHDI et al., 2018; MUNEKATA et al., 2020).

Assim nesse contexto, o óleo de pequi se destaca por apresentar características zootécnicas desejáveis associado à sua alta capacidade antioxidante em função da presença de significativos teores de carotenoides (MIRANDA-VILELA et al., 2014; COMUNIAN et al., 2020). O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é um fruto típico do cerrado brasileiro distribuído em regiões do centro-oeste, sudeste, sul e nordeste (LIMA et al., 2007). Tem-se atribuído resultados positivos da utilização desse óleo na saúde humana, no qual foram observados seu potencial contra os danos oxidativos, entretanto, esse ingrediente ainda não foi estudado na alimentação e nutrição animal.

Diante do exposto, este estudo foi realizado para avaliar o óleo de pequi como aditivo fitogênico e antioxidante natural, no desempenho, perfil bioquímico sérico, função hepática, características de carcaça, qualidade de carne e na estabilidade oxidativa da carne de peito de frangos de corte. Para explorar os mecanismos subjacentes aos efeitos antioxidantes do óleo de pequi, a atividade das enzimas antioxidantes, concentrações de malonaldeído, e expressão de Nrf2 e Hsp 70, também foram determinados, diante de aves submetidas a altas temperaturas, situações estas comumente enfrentadas em todo o mundo.

5. Conclusions

Our results suggest that PO in the diet contributed to improving performance during the experimental period. PO did not cause any adverse effect on blood profile, liver function, carcass yield, or meat quality. In addition, PO inclusion alleviated oxidative stress in plasma and in breast muscle, thus it can improve the health and quality of broiler meat. Therefore, dietary supplementation with PO may be a promising alternative to the use of AGPs such as Avilamycin to improve poultry production.

Acknowledgments

This study was made possible by a sponsored (2018/25363-2) from the São Paulo Research Foundation (FAPESP). The authors would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brazil (CAPES) for financial (student grant - Finance Code 001) support of this research.

References

- Aljumaah M.R., Suliman, G.M., Alabdullatif, A., Abudabos A.M., 2020. Effects of phytobiotic feed additives on growth traits, blood biochemistry, and meat characteristics of broiler chickens exposed to *Salmonella typhimurium*. *Poult. Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.07.033>.
- Allen, C.D., Fletcher, D.L., Northcutt, J.K., Russell, S.M., 1998. The relationship of broiler breast color to meat quality and shelf-life. *Poult. Sci.* 77,361-366.
- Amad, A.A., Manner, K., Wendler, K.R., Neumann, K., Zentek, J., 2011. Effects of a phytogenic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. *Poult. Sci.* 90, 2811-2816
- AMSA - American Meat Science Association. Meat Color Measurement Guidelines 2012. Champaign, Illinois USA. 100p.
- Ashour, E.A., Jumah, M.B., Sayed-Ahmed, E.T.A., Osman, A.O., Taha, A.E., Momenah, M.A., Allam, A.A., Swelum, A.A., El-Hack, M.E.A., 2020. Effects of dried okra fruit (*Abelmoschus esculentus* L.) powder on growth, carcass characteristics, blood indices, and

meat quality of stored broiler meat. *Poult. Sci.* 99, 3060-3069. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.03.009>

Bartkiene, E., Ruzauskas, M., Bartkevics, V., Pugajeva, I., Zavistanaviciute, P., Starkute, V., Zokaityte, E., Lele, V., Dauksiene, A., Grashorn, M., Hoelzle, L.M., Mendybayeva, A., Ryshyanova, R., Gruzauskas, R., 2020. Study of the antibiotic residues in poultry meat in some of the EU countries and selection of the best compositions of lactic acid bacteria and essential oils against *Salmonella enterica*. *Poult. Sci.* 99, 4065–4076. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.002>.

Brenes, A., Roura, E., 2010. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. *Anim Feed Sci Tech* 158,1-14. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.007>

Britton, G., 2020. Carotenoid research: History and new perspectives for chemistry in biological systems. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 1865,1586-1599. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158699>

Buege, J.A., Aust, S.D., 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, New York

Cobb-Vantress, 2018. Broiler Management Guide. Arkansas, USA. Accessed Apr. 2019. <https://www.cobb-vantress.com/products/cobb500>.

Carvalho, I.T, Santos, L., 2016. Antibiotics in the aquatic environments: a review of the European scenario. *Environ Int.* 94,736-757. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.06.025>

Chistensen, L.B., 2003. Drip loss sampling in porcine m. longissimus dorsi. *Meat Sci.* 63,469-477. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00106-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00106-7)

Cho, J.H., Kim, H.J., Kim, I.H., 2014. Effects of phytogenic feed additive on growth performance, digestibility, blood metabolites, intestinal microbiota, meat color and relative organ weight after oral challenge with *Clostridium perfringens* in broilers. *Livest. Sci.* 160,82-88. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.11.006>

Chowdhury, S., Mandal, G.P., Patra, A.K., 2018. Different essential oils in diets of chickens: 1. Growth performance, nutrient utilization, nitrogen excretion, carcass traits and chemical composition of meat *Animal. Anim. Feed Sci. Technol.* 236, 86-97. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.002>

Correa, C.R., Chen, C.Y.O., Aldini, G., Rasmussen, H., Ronchi, C.F., Ronchi, C.B., Cho, S.M., Blumberg, J.B., Yeum, K.J., 2014. Bioavailability of plant pigment phytochemicals in *Angelica keiskei* in older adults: A pilot absorption kinetic study. *Nutr Res Pract.* 8,550-557. <https://doi.org/10.4162/nrp.2014.8.5.550>

Colombo, N.B.R., Rangel, M.P., Martins, V., Hage, M., Gelain, D.P., Barbeiro D.F, Grisolia, C.K., Parra, E.R., Capelozzi, V.L. 2015. Caryocar brasiliense camb protects against genomic and oxidative damage in urethane-induced lung carcinogenesis. *Braz J Med Biol Res.* 48,852-862. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20154467>

- Del R.D., Stewart, A.J., Pellegrini, N., 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 15, 316–28, 2005. Doi: 10.1016/j.numecd.2005.05.003
- De Oliveira, S. D., Flores, F. S., Dos Santos, L. R., Brandelli, A., 2005. Antimicrobial resistance in *Salmonella enteritidis* strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. *Int. J. Food Microbiol.* 97, 297–305.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.04.022>
- Diarra, M.S., Rempel, H., Champagne, J., Pritchard, J., Topp, E., 2010. Distribution of antimicrobial resistance and virulence genes in *enterococcus* spp. and characterization of isolates from broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 8033-8043.
Doi: 10.1128/AEM.01545-10
- Engberg, R. M., Hedemann, M.S., Leser, T.D., Jensen, B.B., 2000. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. *Poult. Sci.* 79, 1311-1319. <https://doi.org/10.1093/ps/79.9.1311>
- Forgetta, V., Rempel, H., Malouin, F., Vaillancourt, Jr R., Topp, E., Dewar, K., Diarra, M.S., 2012. Pathogenic and multidrug-resistant *Escherichia fergusonii* from broiler chicken. *Poult. Sci.* 91, 512-525. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01738>
- Fung, S., Rempel, H., Forgetta, V., Dewar, E.T.K., Diarra, M.S., 2013. “Ceca microbiome of mature broiler chickens fed with or without salinomycin,” in the gut microbiome: the effector/regulatory immune network conference (B3). Keystone symposia on molecular and cellular biology (Taos). New Mexico, USA.
- Gadde, U. D., Oh, S., Lillehoj, H. S., Lillehoj, E. P., 2018. Antibiotic growth promoter's virginiamycin and bacitracin methylene disalicylate alter the chicken intestinal metabolome. *Sci. Rep.* 8, 3592. doi:10.1038/s41598-018-22004-6
- Hartman, L., Lago, L.R., 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab. Pract.* 22, 475-476.
- Hong, J.C., Steiner, T., Aufy, A., Lein, T.F., 2012. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broiler. *Livest. Sci.* 144, 253-262.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.12.008>
- Honikel, K.O., 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* 49, 447-457.
- Jang, I.S., Ko, Y.H., Kang, S.Y., Lee, C.Y., 2007. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 134, 304-315.
- Jiang, J., Xiong, Y.L., 2016. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Sci.* 120, 107-117.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005>

Jomova, K., Valko, M., 2013. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. *Eur. J. Med. Chem.* 70,102-110. Doi: 10.1016/j.ejmech.2013.09.054

Koutsos, E.A. Clifford, A.J., Calvert, C.C., Klasing, K.C., 2003. Maternal Carotenoid Status Modifies the Incorporation of Dietary Carotenoids into Immune Tissues of Growing Chickens (*Gallus gallus domesticus*). *J. Nutr.* 133,1132-1138. <https://doi.org/10.1093/jn/133.4.1132>

Lee, K.W., Everts, H., Kappert, H.J., Beynen, A.C., 2004. Growth Performance of Broiler Chickens Fed a Carboxymethyl Cellulose Containing Diet with Supplemental Carvacrol and/or Cinnamaldehyde. *Int.J. Poult. Sci.* 3,619–622. Doi: 10.3923/ijps.2004.619.622

Lin, C.F., Gray, J.I., Asghar, A., Buckleg, D.J., Booren, A.M., Flegal, C.J., 1989. Effects of dietary oils and a -tocopherol supplementation on lipid composition and stability of broiler meat. *J. Food Sci.* 54: 1457–1460.

Lucas, A. M., and C. Jamroz, 1961. *Atlas of Avian Hematology*. Agriculture Monograph 25, United States Department of Agriculture.

Machado, M.T.C., Mello, B.C.B.S., Hubinger, M.D., 2015. Evaluation of pequi (*Caryocar Brasiliense* Camb.) aqueous extract quality processed by membranes. *Food Bioprod. Process.* 95, 304-312. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.10.013>

Malacrida, C.R., Moraes I.C.F., de Rosso, V.V., Rodrigues C. E. da C., de Souza, A.C., 2018. Effect of the application of an enzymatic pretreatment o bioactive compounds of *Caryocar brasiliense* Camb pulp oil. *J. Food Process. Preserv.* 42,1-6. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13828>

Manzetti, S., Ghisi, R., 2014. The environmental release and fate of antibiotics. *Mar Pollut.* 79, 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.005>

Mehdi, Y., Letourneau-Montminy, M.P., Gaucher, M.L., Chorfi, Y., Suresh, G., Rouissi, T., Brar, S.K., Côté, C., Ramirez, A.A., Godbout, S., 2018. Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and Alternatives. *Anim. Nutr.* 4, 170-178. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.03.002>

Menz, J., Olsson, O., Kümmerer, K., 2019. Antibiotic residues in livestock manure: Does the EU risk assessment sufficiently protect against microbial toxicity and selection of resistant bacteria in the environment?. *J. Hazar Mater.* 379,1-9. Doi:10.1016/j.jhazmat.2019.120807

Miranda-Vilela, A.L., Grisolia, C.K., Sabioni, I., Mendonca, M.A., 2009. Characterization of the major nutritional components of *Caryocar brasiliense* fruit pulp by nmr spectroscopy. *Quím. Nova.* 32,2310-2313. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000900013>.

Miranda-Vilela, A.L., Grisolia, C.K., Longo, J.P.F., Peixoto, R.C.A., de Almeida, M.C., Barbosa, L.C.P., Roll, M.M., Portilho, F.A., Estevanato, L.L.C., Bocca, A.L., Bão, S.N., Lacava, G.M., 2014. Oil rich in carotenoids instead of vitamins C and E as a better option to reduce doxorubicin-induced damage to normal cells of Ehrlich tumor-bearing mice:

Hematological, toxicological and histopathological evaluations. *J Nutr Biochem.* 25,1161-1176. doi: 10.1016/j.jnutbio.2014.06.005

Montalvão, T.M., Miranda-Vilela, A.L., Grisolia, C., Neto, L.S., Miranda-Vilela, L., 2016. Antioxidant Pequi (*Caryocar Brasiliense*) Oil Capsules and Antioxidant Effect of Vitamin D and Physical Activity on Systemic Lupus Erythematosus Patients. *J. Rheum. Dis. Treat.* 2, 1-7. Doi: 10.23937/2469-5726/1510029

Oliveira, M.N.S., Gusmão, E., Lopes, P.S.N., Simões, M.O.M., Ribeiro, L.M., Dias, B.A.S., 2006. Estágio de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos e de textura da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). *Revs. Braz. Frutic.* 28, 80-386. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452006000300010>

Peng, Q.Y., Li, J.D., Duan, Z.Y., Wu, Y.P., 2016. Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on growth performance, carcass traits and jejunal morphology in broiler chickens. *Anim Feed Sci Tech.* 214,148-153. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.02.010>

Petracci, M., Mudalal, S., Soglia, f., Cavani, C., 2015. Meat quality in fast-growing broiler chickens. *Worlds Poult Sci J.* 7, 363-374, 2015. <https://doi.org/10.1017/S0043933915000367>

Ronquillo, G. M., Hernandez, J.C. A., 2017. Antibiotic and synthetic growth promoters in animal diets: review of impact and analytical methods. *Food Contr.* 72, 255-267. Part B. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.03.001>

Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Hannas, M.I., Donzete, J.L., Sakomura, N.K., Perazzo, F. G., Saraiva, A., Teixeira, M.L., Rodrigues, P.B., de Oliveira, R.F., Barreto, S. L de T., Brito, C.O., 2017. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4th. ed. Animal Science Departament, Federal University of Viçosa, MG.

Sahin, K., Orhan, O., Tuzcu, M., Sahin, N., Hayirli, A., Bilgili, A., Kucuk., O., 2016. Lycopene activates antioxidant enzymes and nuclear transcription factor systems in heat stressed broilers. *Poult. Sci.* 95, 1088-1095. <https://doi.org/10.3382/ps/pew012>

SAS Institute. SAS User's guide: Statistics. Version 9.2. Cary, NC, 2008

Sevcikova, S., Srivan, M., Dlouhá, G., 2008. The effect of lycopene supplementation on lipid profile and meat quality of broiler chickens. *Czech J. Anim. Sci.* 53,,431–440. <https://doi.org/10.17221/350-CJAS>

Silva, J. S., Rodriguez, F.D., Trettel, M. Abal, R.T., Lima, C.G., Yoshikawa, C.Y.C., Zanetti, M.A., 2020. Performance, carcass characteristics and meat quality of nellore cattle supplemented with supranutritional doses of sodium selenite or seleniumenriched. *Animal.* 14, 215-222. <https://doi.org/10.1017/S1751731119001265>

Stahl, W., sies, H., 2003. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol. Aspects. Med.* 24, 345–35. [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(03\)00030-X](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00030-X)

Surai, A.P., Surai, P.F., Steinberg, W., Wakeman, W.G., Speake, B.K., Sparks, N.H.C., 2003. Effect of canthaxanthin content of maternal diet on the antioxidant system of the developing chick. *Br. Poult. Sci.* 44, 612-619. <https://doi.org/10.1080/00071660310001616200>

Tarladgis, B. G., Watts, B.M., Younathan. M.T., 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 37,44–48

Vale, A. F., Ferreira, H.H., Benetti, E.J., Rebelo, A.C.S., Figueiredo, A.C.R., Barbosa, E.C., Simões, K., 2018. Antioxidant effect of the pequi oil (*Caryocar brasiliense*) on the hepatic tissue of rats trained by exhaustive swimming exercises. *Braz. J. Biol.* 79, 257-262. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.180015>

Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T. P., Teillant, A., Laxminaraya, R., 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>

Wenk, C., 2003. Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. *Asian. Australas J. Anim. Sc.* 16, 282–289. <https://doi.org/10.5713/ajas.2003.282>

Windisch, W.M., Schedle, K., Plitzner, C., Kroismayr, A., 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J Anim. Sci.* 86, 140–148, 2008. doi: 10.2527/jas.2007-0459

Zhang, J., Hou, X., Ahmad, H., Zhang, H., Zhang, L., Wang T., Zhang, J., Hou, X., Ahmad, H., Zhang, H., Zhang, L., Wang, T., 2014. Assessment of free radicals scavenging activity of seven natural pigments and protective effects in AAPH-challenged chicken erythrocytes. *Food Chem.* 145, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.025>

Zhang, J.F., Bai, K.W., Su, W.P., Wang, A.A., Zhang, L.L., Huang, K.H., Wang, T., 2018. Curcumin attenuates heat-stress-induced oxidant damage by simultaneous activation of GSH-related antioxidant enzymes and Nrf2-mediated phase II detoxifying enzyme systems in broiler chickens. *Poult. Sci.* 97, 1209–1219. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex408>

Zhang, J., Wang, Y., Pan, D.D., Cao, J.X., Shao, F., Chen, Y.J., Sun, Y.Y., Ou, C.R., 2016. Effect of black pepper essential oil on the quality of fresh pork during storage. *Meat Sci.* 117, 130-136. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.002>

Zhang, K.Y., Yan, F., Keen, C.A., Waldroup, P.W., 2005. Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens. *Int. J. Poult. Sci.* 4, 612–619. Doi: 10.3923/ijps.2005.612.619

IMPLICAÇÕES

Na avicultura moderna, há grande interesse no uso de ingredientes naturais para melhorar o desempenho, saúde das aves, bem como, melhorar a estabilidade e qualidade dos produtos de origem animal. Isto porque, a produção avícola cresce acentuadamente, as aves são altamente especializadas na produção carne ou ovos e os desafios na criação exigem cada vez mais do metabolismo animal. Em conjunto com estas perspectivas, os consumidores atuais levam em consideração na hora da compra de produtos oriundos da produção animal, ideais de bem-estar, sustentabilidade e ausência de resíduos potencialmente danosos a saúde. Portanto, a exploração de produtos naturais é bem vinda na produção avícola e tem demonstrado resultados positivos.

O pequi é um fruto tipicamente brasileiro distribuído na biodiversidade do cerrado, fazendo parte da culinária local e da medicina popular, e fonte de renda das comunidades extrativistas por meio de manejo sustentável (extração racional e artesanal; IBAMA portaria nº113). O óleo do pequi é extraído particularmente, por técnica manual com a fervura e maceração dos mesmos, entretanto, devido seu valor e utilidade em diversas áreas, equipamentos específicos de extração de óleo da polpa para otimizar o processo tem sido desenvolvido, o que também trará retorno para os extrativistas que vivem da coleta e venda deste fruto e seus derivados. Além disso, as propriedades do óleo de pequi despertaram o interesse de diversas pesquisas envolvidas na terapia anticâncer, antitumoral e como alimento protetivo contra o estresse oxidativo na saúde humana.

Partindo destas características, este estudo pioneiro com óleo de pequi em frangos de corte teve intuito de investigar sua ação no organismo animal, suplementado em pequenas doses na dieta das aves sob condições de conforto ou desafiadas a altas temperaturas, situação está comum na criação avícola em todo o mundo. E foi possível observar que os carotenoides

presentes no óleo de pequi (β -caroteno, luteína e licopeno) contribuem na redução dos danos oxidativos nas aves, o que os tornam fisiologicamente mais preparados as situações adversas. Adicionalmente, o fato de as dietas com óleo de pequi não afetarem as características de desempenho, rendimento de cortes nobres e a qualidade de carne, sendo estes semelhantes as dietas com antibiótico, permite que o óleo de pequi seja um potencial ingrediente alternativo ao uso de promotores de crescimento, o que atende as preocupações atuais, gera ganhos econômicos e agrega valor ao produto final.

O Brasil desempenha um papel internacional crucial como fornecedor de alimentos nos setores agrícola e animal, o que, aliado à sua enorme biodiversidade, o torna ator-chave para o trabalho em questões de microrganismos resistentes a antibióticos (RAMs), particularmente na pecuária. É também importante destacar que as relações comerciais com a União Europeia e a questão da RAMs são seriamente levadas em consideração e fazer avançar este assunto significa também avançar nas relações comerciais. *E de que forma nós (profissionais) podemos trabalhar em relação a estas temáticas?* Sem dúvida, por meio da constante inovação na pesquisa, não é uma tarefa simples, pois envolve diversas estratégias e, neste caso, o uso de produtos naturais e alternativos poderão auxiliar nos avanços produtivos e comerciais na cadeia avícola brasileira. Finalmente, novas pesquisas com óleo de pequi devem ser realizadas para investigar com detalhes a ação benéfica na saúde avícola, fazendo-se o uso de técnicas a nível celular como nutrigenômica, e investigando a atividade e modulação microbiana intestinal e imunológica das aves. Adicionalmente, as novas pesquisas podem suscitar a valorização deste produto nas comunidades extrativistas, bem como, gerar novas tecnologias de extração do produto, fechando o ciclo de retorno econômico produtivo, social e sustentável.