

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**IMPACTO DO ESTRESSE TÉRMICO AGUDO NA
QUALIDADE FÍSICA E QUÍMICA DA CARNE E
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE FRANGOS DE CORTE**

Aline Buda dos Santos Vaz

Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**IMPACTO DO ESTRESSE TÉRMICO AGUDO NA
QUALIDADE FÍSICA E QUÍMICA DA CARNE E
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE FRANGOS DE CORTE**

Aline Buda dos Santos Vaz

Orientador: Prof. Dr. Pedro Alves de Souza

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

JABOTICABAL – SÃO PAULO

Abril 2012

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ALINE BUDA DOS SANTOS VAZ – nascida em Araraquara – SP no dia 18 de dezembro de 1984, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP – campus de Dracena em dezembro de 2008. Trabalhou na empresa Metachem Nutrientes, de 2008 a 2010 como assistente de vendas. Em março de 2010 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia pela FCAV - Câmpus de Jaboticabal, no Departamento de Tecnologia, laboratório de Tecnologia dos Produtos de Origem Animal, submetendo-se a defesa de dissertação no dia 20 de abril de 2012.

De tudo ficaram três coisas:

A certeza de que estamos começando,

A certeza de que é preciso continuar,

A certeza de que podemos ser interrompidos antes de terminar.

Façamos da interrupção um caminho novo,

Da queda, um passo de dança,

Do medo, uma escada,

Do sonho, uma ponte,

Da procura, um encontro !!!

(Fernando Sabino)

Aos maiores mestres que a vida me deu,

Exemplos de luta, conquistas, dedicação, amor e superação;

Ao Roberto, à Angela, à Carol e à Carmem;

Pai, mãe, irmã e Avó;

*Que sempre tornaram cada passo mais fácil e cada caminho mais bonito e
prazeroso;*

Ao meu marido Rodrigo pelo companheirismo incentivo e amor;

Dedico e ofereço

Agradecimento especial

A Deus,

Por nunca me abandonar.

Ao meu orientador

Prof. Dr. Pedro Alves de Souza,

Pela confiança em mim depositada e pela oportunidade.

As minhas Coorientadoras

Profa. Dra. Hirasilva Borba e Dra. Luciana Miyagusku

Pela amizade, incentivo e dedicação.

Muito Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Junior (Duri), pela atenção na qualificação;

Ao pessoal do Lab. de TPOA: Tânia, Jú Lolli, Ritinha, Mari, Flávia, Diego, Léo, Talyane, Camila, as estagiárias Juliana e Iara, Dra. Greicy, Msc. Tharcilla e Dr. Marcel pela ajuda durante o experimento, pela descontração e pela amizade;

Ao pessoal do centro de tecnologia de carnes (CTC) do instituto de tecnologia de alimentos de Campinas (ITAL): Renata, Ivonete, Gláucia, Miriam, Sandra por terem me acolhido tão bem, pelos excelentes ensinamentos e pela dedicação as minhas análises microbiológicas e aos estagiários: Ricardo, Suzana, Esther e Talita pela ajuda;

A minha amiga Susana, pelo incentivo e apoio, mesmo estando longe sempre me atendia para longas conversas e desabafos;

À minha amiga Aline Giampietro Ganeco, pela amizade, ajuda e excelentes conversas que sempre terminavam em grandes gargalhadas;

Aos meus colegas Gimbo, Tomomi, Lidiane e Natália pela hospitalidade durante o tempo que convivi com eles;

Às secretarias do Depto de Tecnologia, Beth e Renata, pela atenção;

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, pelos serviços prestados;

Aos funcionários do Setor de Avicultura, Robson, Izildo e Vicente, pelo apoio durante a criação das aves;

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e à FAPESP, pelo auxílio financeiro dessa pesquisa;

À FCAV/Unesp, por mais uma oportunidade de crescimento.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	xi
SUMMARY	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Estresse térmico <i>versus</i> qualidade de carne	2
2.2. Estresse térmico <i>versus</i> microbiota intestinal de frangos de corte ..	6
3. OBJETIVO	8
4. MATERIAL E MÉTODOS	9
4.1. Análises microbiológicas	12
4.1.1. Preparo das diluições dos suabes	12
4.2. Detecção de <i>Campylobacter</i> spp.	13
4.3. Determinação da população de <i>Escherichia coli</i>	13
4.4. Determinação da população de Enterobacteriaceas totais	14
4.5. Determinação da população de bactérias lácticas	14
4.6. Isolamento, seleção e identificação de <i>Listeria monocytogenes</i> e	15
<i>Salmonella</i> spp. por reação em cadeia da polimerase em tempo real	15
4.6.1. Pré-enriquecimento	15
4.6.2. Enriquecimento seletivo	15
4.6.3. Plaqueamento diferencial	16
4.6.4. Confirmação preliminar das colônias típicas de <i>Salmonella</i>	16
4.6.5. Teste sorológico somático polivalente	16
4.7. Análises físicas e químicas	17
4.7.1. Determinação do Valor R	17
4.7.2. Determinação do pH	17
4.7.3. Determinação da perda de peso por cozimento	18
4.7.4. Determinação da força de cisalhamento	18
4.7.5. Determinação da capacidade de retenção de água	18
4.7.6. Determinação da cor	18
4.7.7. Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	19
5. Análise estatística	19
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
6.1. Avaliação microbiológica	19
6.2. Qualidade física e química da carne	25
7. CONCLUSÕES	39
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composições percentuais e calculadas das rações experimentais	11
Tabela 2. Umidade relativa (UR) e temperatura ideal de acordo com cada fase de criação	12
Tabela 3. Resultados da pesquisa de <i>Salmonella</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Campylobacter</i> spp. em amostras cloacais obtidas por meio de <i>suabe</i> das aves submetidas ao estresse térmico	20
Tabela 4. Médias obtidas para substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs), capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) da carne de frangos de corte com 21 dias de idade	26
Tabela 5. Desdobramento da interação entre temperatura e duração do estresse em horas para as médias das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs) da carne de frangos de corte com 21 dias de idade	28
Tabela 6. Médias obtidas para luminosidade (L*), intensidade de vermelho (a*), intensidade de amarelo (b*), pH e valor de R da carne de frangos de corte com 21 dias de idade	29
Tabela 7. Desdobramento da interação entre temperatura e duração do estresse em horas para as médias de pH da carne de frangos de corte com 21 dias de idade	30
Tabela 8. Médias obtidas para substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs), capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) da carne de frangos de corte com 35 dias de idade	31

Tabela 9. Desdobramento da interação entre temperatura e duração do estresse em horas para as médias das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs) da carne de frangos de corte com 35 dias de idade	33
Tabela 10. Médias obtidas para luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*), intensidade de amarelo (b^*), pH e valor de R da carne de frangos de corte com 35 dias de idade	34
Tabela 11. Médias obtidas para substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs), capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) da carne de frangos de corte com 42 dias de idade	35
Tabela 12. Desdobramento da interação entre temperatura e duração do estresse em horas para as médias das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs) da carne de frangos de corte com 42 dias de idade	37
Tabela 13. Médias obtidas para luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*), intensidade de amarelo (b^*), pH e valor de R da carne de frangos de corte com 42 dias de idade	38

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Gráfico da PCR do resultado da pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. gerado pelo GDS®	21
Figura 2. Gráfico da PCR do resultado da pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> gerado pelo GDS®	22
Figura 3. Resultados da contagem de bactérias lácticas em amostras cloacais obtidas por meio de <i>suabe</i> das aves no: 1, 2, 5, 15, 21 (0h, 24h, 48h, 72h), 35 (0h, 24h, 48h, 72h) e 42 (0h, 24h, 48h, 72h) dias experimentais	23
Figura 4. Resultados da pesquisa de <i>Escherichia coli</i> em amostras cloacais obtidas por meio de <i>suabe</i> das aves no: 1, 2, 5, 15, 21 (0h, 24h, 48h, 72h), 35 (0h, 24h, 48h, 72h) e 42 (0h, 24h, 48h, 72h) dias experimentais	23
Figura 5. Resultados da pesquisa de <i>Enterobacteriaceas totais</i> em amostras cloacais obtidas por meio de <i>suabe</i> das aves no: 1, 2, 5, 15, 21 (0h, 24h, 48h, 72h), 35 (0h, 24h, 48h, 72h) e 42 (0h, 24h, 48h, 72h) dias experimentais	24

IMPACTO DO ESTRESSE TÉRMICO AGUDO NA QUALIDADE FÍSICA E QUÍMICA DA CARNE E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO - Avaliou-se o efeito de diferentes períodos (0h, 24h, 48h e 72h) de estresse térmico sobre a qualidade física e química da carne de frangos de corte e a incidência de *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. e a população de Bactérias lácticas, *Escherichia coli* e Enterobacteriaceas totais. Foram utilizados 500 pintainhos da linhagem Cobb 500[®], dos quais 100 animais foram criados em temperatura termoneutra, ideal para cada fase de criação, constituindo o grupo controle, e os outros 400 animais foram criados em uma câmara climática à temperatura de 32°C ± 2°C, considerada de estresse térmico para as aves. Foi avaliada a qualidade física e química da carne aos 21, 35 e 42 dias e foi feita também uma avaliação microbiológica dos animais. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4 (temperaturas e duração do estresse), com 4 repetições. As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. O estresse térmico afetou as propriedades qualitativas da carne, especialmente a oxidação lipídica, capacidade de retenção de água, força de cisalhamento, valor R e pH. As diferentes temperaturas de criação não interferiram na incidência *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. e na população de Bactérias lácticas, *Escherichia coli* e Enterobacteriaceas totais.

Palavras-Chave: altas temperaturas, alterações fisiológicas, microrganismos e propriedades qualitativas.

ACUTE THERMAL STRESS IMPACT IN PHYSICAL AND CHEMICAL QUALITY OF MEAT AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF

SUMMARY - It was evaluated the effect of different periods (0h, 24h, 48h and 72h) of thermal stress on the physical and chemical quality of broilers meat, the incidence of *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella spp.*, and the count of lactic-acid bacteria, *Escherichia coli* and Enterobacteriaceae. It was used 500 Cobb 500[®] chicks, of which 100 animals were reared in thermoneutral temperature, optimal for every rearing stage, constituting the control group. The other 400 animals were reared in a climate chamber under temperature conditions of 32° C ± 2°C, considered as thermal stress to birds. It was evaluated the physical and chemical quality of the meat at 21, 35 and 42 days old, and it was also made a microbiological evaluation of the animals. This experiment was carried out in a completely randomized design with a factorial of 2x4 (temperature and periods of stress respectively), and 4 replicates. The means were compared by Tukey test at 5% significance level. The thermal stress affected the qualitative properties of the meat, especially the lipid oxidation, the water retention capacity, the shear force, the R value, and the pH. The different rearing temperatures did not affect the incidence of *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella spp.*, neither the count of lactic-acid bacteria, *Escherichia coli* and Enterobacteriaceae.

Keywords: high temperature, physiological alterations, microorganisms and qualitative properties.

1. INTRODUÇÃO

O dinamismo da atividade avícola está atrelado às melhorias nos índices de conversão alimentar, ganhos nutricionais, automação dos aviários e genética. O Brasil é o terceiro maior produtor e o maior exportador mundial de carne de frango, totalizando em 2010 uma produção de 12,23 milhões de toneladas (ABEF, 2011). A liderança do país no mercado mundial de carne de frango reflete a grande importância que esse segmento representa, para a economia brasileira.

Nas últimas décadas, a avicultura vem sofrendo grandes mudanças, principalmente pelas novas tecnologias aplicadas à genética, nutrição e sanidade, fazendo com que os índices de produtividade rompam barreiras cada vez maiores todos os anos (BATISTA, 2001). Com o avanço genético, o desempenho produtivo atingiu índices elevados, resultando em animais com metabolismo mais acelerado, mas com capacidade termorreguladora pouco eficiente para enfrentar condições de altas temperaturas e umidade (LAGANA, 2005).

Os países tropicais apresentam mais um agravante que são as altas temperaturas, as quais influenciam diretamente no bem-estar das aves. Sendo assim, no Brasil, os sistemas de criação de aves proporcionam pouca margem de manobra, em que os fatores climáticos são pobremente manipulados e gerenciados, para os ajustes comportamentais necessários para a manutenção da homeostase térmica (BERAQUET, 1999). Desta forma, as condições climáticas das regiões tropicais têm interferido negativamente na produtividade e qualidade da criação de frangos de corte sendo, as linhagens com alta taxa de crescimento as que apresentam maior sensibilidade (CAHANER et al., 1995).

De acordo com NIENABER et al. (2003) situações de estresse, são eventos de temperaturas máximas acima de 32°C, que ocorrem durante três a cinco dias consecutivos. Nesta situação o bem estar do animal será afetado proporcionando maiores níveis de injúrias como consequência às respostas fisiológicas ao

estresse térmico, influenciando diretamente no desempenho, na qualidade da carne e no sistema imune do animal.

Paralelos aos avanços alcançados a avicultura tem hoje, segundo MITCHELL (2001), maior incidência de problemas sanitários, maior susceptibilidade ao estresse térmico e redução na qualidade da carne. Desta forma um dos maiores desafios para a indústria avícola é oferecer produtos padronizados, com aparência, textura e sabor agradáveis e estáveis durante toda a vida útil desses produtos, com inocuidade e o menor custo possível.

Nas últimas décadas, houve uma grande preocupação com o bem estar desses animais, pois alterações fisiológicas ocasionadas por estresse calórico causam grandes prejuízos aos avicultores. Quando as aves são expostas ao calor ocorrem respostas fisiológicas compensatórias para voltar à zona de conforto térmico, com isso ocorre perda na produção (SOUSA JÚNIOR, 2006).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Estresse térmico *versus* qualidade de carne

O termo estresse engloba todos os ajustes e respostas fisiológicas desencadeadas pelo organismo do animal diante de condições adversas. Estas respostas ocorrem de modo a tentar aumentar a sobrevivência do indivíduo e podem ser representadas por alterações do ritmo cardíaco e respiratório, da temperatura corporal e da secreção de hormônios, assim como por mudanças no comportamento e no desempenho do animal (CARRASCO & VAN DE KAR, 2003).

Segundo NAVARINI (2009), a temperatura ambiente pode ser considerada o fator físico de maior efeito no desempenho do frango de corte, por exercer grande influência no consumo de ração, afetando diretamente o ganho de peso e a conversão alimentar, já que durante o estresse por calor, há uma redução na eficiência de utilização de alimentos. Ocorre desvio de nutrientes gerando perdas

na produção de carne e ovos. A ave também diminui a ingestão de ração e aumenta a de água e passa a maior parte do tempo deitada, causando problemas nos membros posteriores e o aparecimento de calos no peito (RABELLO, 2008).

As aves são animais homeotermos, que assim como os mamíferos, dispõem de um centro termorregulador localizado no hipotálamo que é constituído por neurônios que respondem ao calor e são acionados quando a temperatura corporal aumenta, desencadeando em reações comportamentais e mecanismos adaptativos de termorregulação, responsáveis por manter e controlar a homeotermia pelas trocas de calor com o ambiente (BORGES et al., 2003). Quando a temperatura do ambiente se eleva acima da zona de conforto térmico, o animal é submetido a uma condição de estresse, de modo que seu organismo reaja de maneira compensatória na tentativa de aumentar a dissipação de calor e manter o equilíbrio térmico do corpo (FURLAN & MACARI, 2002).

A temperatura ideal para criação de frangos de corte está próxima aos 20°C, à temperatura média da superfície da pele é ao redor de 33°C e a temperatura interna de 41°C (TANKSON et al., 2001). Quando em temperaturas ambientais altas, as melhores ferramentas de dissipação de calor utilizadas pela ave são: o aumento da taxa respiratória que é chamada de hiperventilação e a vasodilatação periférica que promove a perda não evaporativa (LAVOR et al., 2008).

A maior susceptibilidade das aves ao estresse calórico está diretamente relacionada à umidade relativa do ar e a temperatura ambiente, pois quando expostas ao calor ocorrem respostas fisiológicas compensatórias para voltar à zona de conforto térmico (CAIRES et al., 2008). Os problemas decorrentes do aumento da susceptibilidade ao estresse térmico ocasionaram o aparecimento de alterações na carne de frangos, trazendo sérios prejuízos para a industrialização dos produtos cárneos além de provocarem maior rejeição pelo consumidor, devido às alterações físico-químicas e organolépticas da carne.

As alterações nos parâmetros de qualidade são atribuídas ao estresse pré-abate, que desencadeia transtornos fisiológicos que podem causar alterações

bioquímicas anômalas durante a transformação do músculo em carne e afetar a estrutura miofibrilar (FLETCHER, 1991). Em músculos com desenvolvimento bioquímico alterado, as diferentes velocidades nas reações de glicólise podem determinar alterações nas características de qualidade da carne.

A qualidade de um produto pode ser definida como o conjunto de atributos que satisfaçam o consumidor ou até mesmo que supere suas expectativas iniciais. O conceito de qualidade de carne é bastante amplo e complexo e é definido por características objetivas e subjetivas, sendo que as objetivas abrangem as físicas, nutricionais e higiênicas e as subjetivas englobam as sensoriais, apresentação e forma do produto. Os principais atributos da qualidade de carne das aves são aparência, textura, suculência, sabor e propriedades funcionais e, entre essas, a aparência e a textura são os parâmetros mais importantes que influenciam o consumidor na seleção inicial e na satisfação final do produto.

Segundo CASTILLO (2001), a qualidade da carcaça e da carne de frangos é cada vez mais exigida, em função de uma série de mudanças no hábito de consumo, como comercialização de cortes, para atender o mercado de produtos de rápido preparo.

O trabalho de BIANCHI et al. (2007) evidenciou que a incidência de carnes pálidas e com propriedades funcionais prejudicadas é maior no verão, demonstrando a influência do calor para a ocorrência da baixa qualidade em carne de frangos.

Episódios de estresse agudo podem ser vivenciados em produção comercial de frangos ou durante algumas das etapas da cadeia produtiva como transporte e tempo de espera no frigorífico antes do abate (WARRIS et al., 1993). É possível que o estresse agudo pré-abate cause, ao mesmo tempo, alterações na permeabilidade das membranas e mudanças no metabolismo do músculo dos frangos, influenciando a qualidade de carne no período *post mortem* (SANDERCOCK et al., 2001). Segundo NORTHCUTT et al. (1994), frangos expostos a estresse térmico agudo ou de curto prazo, antes do abate, apresentam alterações na qualidade de carne.

Com o objetivo de caracterizar respostas fisiológicas e analisar a qualidade de carne de aves expostas a um estresse térmico agudo, SANDERCOCK et al. (2001) realizaram um estudo com dois tratamentos: controle (21°C e 50% UR) e estresse térmico agudo (32°C e 75% UR), ambos em câmara climática por duas horas. Os pesquisadores encontraram maior perda de peso por gotejamento (PPG) e forte efeito do estresse térmico sobre a taxa de queda do pH *post mortem* do músculo. BRESSAN & BERAQUET (2002) afirmam que a temperatura ambiente interfere no *rigor mortis* das aves, que quando em conforto térmico é lento e em estresse térmico é acelerado.

Durante o período de estresse térmico pré-abate, há um aumento no consumo de glicogênio muscular e a via de degradação de glicose é acelerada, resultando em alterações nas propriedades das carnes durante o processo de maturação *post mortem* (AKSIT et al., 2006).

Ao estudarem a relação do estresse térmico com a qualidade da carne de frangos de corte de linhagens comerciais ALMEIDA et al. (2007), encontraram peitos mais escuros, menor valor de pH para carne as 24 horas após o abate e maior capacidade de retenção de água a 1 hora após o abate.

SOUZA et al. (2010) ao estudarem os efeitos da automatização nas diferentes estações do ano sobre a qualidade da carne de frangos de corte, concluíram que as aves criadas em sistemas automatizados e semiautomatizados nos períodos mais quentes do ano apresentaram carne com maior perda de peso por cozimento, menor maciez e maior acidez.

Segundo BROSSI et al. (2009), pesquisas sobre o estresse animal relacionadas com a qualidade da carne favorecem todos os segmentos envolvidos com o setor avícola, pois os setores produtivos passam a se adequar às exigências das indústrias processadoras e as indústrias passam a se adequar às exigências e aceitação do mercado consumidor.

2.2. Estresse térmico *versus* microbiota intestinal de frangos de corte

A defesa dos animais a agentes estranhos como vírus, bactérias, protozoários e outros parasitas ocorre devido ao trabalho fundamental do sistema imunológico dos animais. O equilíbrio entre a boa funcionalidade do sistema imune e os desafios de campo é o fator determinante da saúde de um animal (SANTIN, 2009).

Os principais fatores que interferem negativamente sobre o sistema imune, são: o estresse de manejo, as micotoxinas e os baixos níveis de vitaminas e minerais na dieta. Assegurar que esses fatores estejam controlados pode melhorar a saúde e a produtividade dos animais, bem como afetar diretamente no custo de produção animal.

Nos últimos anos, a influência do estresse sobre a função neuroimune vem sendo extensivamente estudada, uma vez que, é notório os efeitos danosos para os indivíduos. Animais expostos a situações de adversas sofrem com os efeitos do estresse acarretando aos animais de produção, um atraso em seu crescimento, a prejuízos reprodutivos e até mesmo a morte (MOBERG, 2000). Ressalta-se ainda que o estresse térmico, se mantido por tempo prolongado, produz lesões na mucosa do trato gastrointestinal e prejudicar a absorção de nutrientes (MARTINDALE, 2005; SIFRI, 2006).

Em uma revisão de SALAK-JOHNSON & McGLONE (2007) inúmeros trabalhos são mencionados, citando o efeito do estresse sobre a imunidade como supressão da resposta imune celular e humoral. Esses autores concluem que animais expostos a condições de estresse desencadeiam esse processo de liberação de glicocorticóides e podem ser mais susceptíveis a doenças infecciosas.

THAXTON & SIEGEL (1982) e MILLER & QUERSHI (1991) demonstraram que aves expostas a estresse ambiental de várias naturezas apresentavam depressão do sistema imunológico. Quando galinhas foram expostas a temperaturas variando de 32,2 a 43°C, por períodos curtos de temperaturas

elevadas intermitentes, ou ciclos de altas temperaturas constantes, a resposta imune foi reduzida significativamente. HECKERT et al. (2002) mostraram que frangos submetidos a uma superlotação (20 aves/m²), apresentaram diminuição da atividade imune.

Segundo FULLER (1989), qualquer fator que desequilibre a microbiota intestinal pode permitir a instalação e a multiplicação de microrganismos patogênicos, portanto, o equilíbrio da microbiota intestinal reflete diretamente no estado de saúde do hospedeiro. De acordo com COURRIER (1991), infecções agudas por *S. Enteritidis* ocorrem geralmente, em aves jovens ou sob condições de estresse.

As bactérias patogênicas de maior importância para a avicultura são *Salmonella* spp. e *Campylobacter jejuni*, envolvidas em surtos de gastroenterite, e *Listeria monocytogenes*, relacionada com casos de meningite e meningoencefalite (BYRD et al., 2003). Essas bactérias além de entravarem a produtividade animal, apresenta grande importância na saúde pública, pois está intimamente relacionada com as infecções alimentares.

Bactérias como a *Salmonella* spp., são as mais frequentes em casos de enfermidade de origem alimentar em humanos, em comidas à base de carne e derivados de frango. Essa bactéria se aloja no trato intestinal do homem e dos animais sendo capaz de se multiplicar em vários meios de cultura e produzir colônias visíveis a 37 °C em 24 horas. O pH ótimo de desenvolvimento da *Salmonella* spp. é próximo à neutralidade, sendo que valores acima de 9,0 e abaixo de 4,0 são considerados bactericidas (GAST, 2003).

Outro microrganismo importante é o *Campylobacter* spp. de distribuição mundial, sendo seu principal representante a espécie *Campylobacter jejuni*, comportando-se como agente patogênico ou como microbiota normal do trato gastrointestinal de animais como bovinos, aves, ovinos, cães e gatos (SCARCELLI et al., 1998). Desta forma, o alimento cárneo torna-se fonte de infecção mais importante da campilobacteriose intestinal.

Listeria monocytogenes é a única espécie do gênero *Listeria* que é patogênica para humanos. A listeriose lidera o posto de doenças associadas a alimentos que causam maior número de mortes e hospitalizações (91%), envolvendo principalmente gestantes, recém-natos e imunocomprometidos (EFSA, 2006).

Diante do exposto, o estresse térmico é relevante para a avicultura, pois as altas temperaturas podem debilitar o organismo das aves, aumentando a proliferação de bactérias patogênicas e diminuindo a população de bactérias benéficas no trato gastrintestinal, devido à quebra da barreira imune. Nesse sentido o estresse poderá interferir no comportamento da microbiota do intestino, que por sua vez protege o hospedeiro contra a colonização de patógenos e o aparecimento de doenças oportunistas.

3. OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo:

- Avaliar o impacto do estresse térmico sobre a qualidade física e química da carne de frangos de corte;
- Verificar se o estresse térmico interfere no comportamento da microbiota intestinal de frangos de corte, determinando a incidência de *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., além da população de bactérias lácticas, *Escherichia coli* e Enterobacteriaceas totais, por meio de uma avaliação microbiológica das aves durante toda fase experimental, que corresponde aos 45 dias de criação.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas câmaras climáticas do aviário experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV – UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP.

Foram utilizados 500 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500[®], os quais receberam água e ração à vontade durante os 45 dias de criação. As rações foram formuladas de acordo com a idade das aves e com base em suas exigências nutricionais (ROSTAGNO et al., 2005) (Tabela 1). Os animais foram vacinados contra a Doença de Gumboro (cepa intermediária Lukert, com 7 e 19 dias) e New Castle (cepa Ulster, com 12 e 24 dias).

Duas câmaras climáticas foram utilizadas para alojarem as aves, com densidade de 10 aves/m² distribuídas em boxes com dimensões 1 m x 2,5 m, contendo 25 aves cada. 100 aves foram mantidas em uma câmara com temperatura termoneutra, ideal para cada fase de criação de acordo com as recomendações da Cobb (Tabela 2). As outras 400 aves foram alojadas em outra câmara climatizada, com sistema de aquecimento e refrigeração as quais foram submetidas a diferentes períodos de estresse térmico (0, 24, 48 e 72 horas), onde a temperatura interna da câmara se elevou para 32°C ± 2°C. Em ambas as câmaras foi utilizado o período de 24 horas de luz, durante toda a fase experimental.

Aos 21 dias de idade as aves foram submetidas aos diferentes períodos de estresse. Após permanecerem em estresse térmico durante 72 horas os aquecedores foram desligados e os animais foram mantidos na termoneutralidade até a próxima fase de estresse que se iniciou aos 35 dias e depois se repetiu aos 42 dias.

Após cada período de estresse 12 aves de cada câmara foram abatidas, no abatedouro experimental do setor de avicultura da FCAV/UNESP, conforme os procedimentos convencionais de abate. Em seguida as carcaças foram embaladas em sacos plásticos e acondicionadas em caixas com gelo moído, até o momento das análises. As outras aves restantes continuaram nos respectivos boxes, até o próximo período de estresse.

Tabela 1. Composições percentuais e calculadas das rações experimentais.

Ingrediente (%)	Inicial (1-21dias)	Crescimento (22-35 dias)	Acabamento (36-45 dias)
Milho	55,14	63,89	65,04
Farelo de Soja	39,00	30,26	27,86
Óleo de Soja	1,81	2,47	3,87
Fosfato Bicálcico	1,83	1,63	1,38
Calcário Calcítico	1,30	0,85	0,95
Cloreto de Sódio	0,30	0,30	0,30
Pré Mixtura Vit. Min*	0,50	0,50	0,50
Metionina (98%)	0,12	0,10	0,10
Total	100	100	100
Composição Calculada			
Proteína Bruta (%)	21,50	19,00	18,00
Energia Metabolizável (Kcal/Kg)	3000	3120	3225
Fósforo Disponível (%)	0,45	0,40	0,35
Cálcio (%)	0,95	0,84	0,80
Metionina + Cistina (%)	0,85	0,78	0,75
Metionina (%)	0,50	0,46	0,45
Lisina (%)	1,20	1,06	1,00

*Composição do produto (kg) – **Inicial:** vit. A 176.000 UI, vit. D3 40.000 UI, vit. E 500 mg, vit. K 120 mg, vit. B2 200 mg, vit. B6 70 mg, vit. B12 700 mcg, niacina 750 mg, biotina 3 mg, ácido pantotênico 600 mg, ácido fólico 30 mg, colina 20 mg, ferro 1.100 mg, cobre 300 mg, iodo 24 mg, metionina 32 mg, cálcio 180 mg, fósforo 66 mg, sódio 23 mg, cloro 36 mg, promot. cresc. e efic. alimentar 2 mg, coccidiostático 10g, antifúngico 200 mg, antioxidante 1 mg, magnésio 5 g, enxofre 4 g, veículo energético e protéico (q. s. p.) 1.000 g. **Crescimento:** vit. A 150.000 UI, vit. D3 35.000 UI, vit. E 480 mg, vit. K 110 mg, vit. B1 34 mg, vit. B2 170 mg, vit. B6 70 mg, vit. B12 650 mcg, niacina 700 mg, biotina 3 mg, ácido pantotênico 500 mg, ácido fólico 25 mg, colina 12 mg, ferro 1.100 mg, cobre 300 mg, iodo 24 mg, metionina 20 mg, cálcio 176 mg, fósforo 60 mg, sódio 23 mg, cloro 36 mg, promot. cresc. e efic. alimentar 2 mg, coccidiostático 10 g, antifúngico 200 mg, antioxidante 1 mg, magnésio 5 g, enxofre 3 g, veículo energético e protéico (q. s. p.) 1.000 g. **Acabamento:** vit. A 150.000 UI, vit. D3 35.000 UI, vit. E 450 mg, vit. K 100 mg, vit. B1 30 mg, vit. B2 160 mg, vit. B6 70 mg, vit. B12 650 mcg, niacina 700 mg, biotina 3 mg, ácido pantotênico 500 mg, ácido fólico 25 mg, colina 12 mg, ferro 1.100 mg, cobre 300 mg, iodo 24 mg, metionina 18 mg, cálcio 176 mg, fósforo 58 mg, sódio 23 mg, cloro 36 mg, antifúngico 200 mg, antioxidante 1 mg, magnésio 5 g, enxofre 3 g, veículo energético e protéico (q. s. p.) 1.000 g.

Tabela 2. Umidade relativa (UR) e temperatura ideal de acordo com cada fase de criação.

Idade	UR (%)	Temperatura (°C)
1	30-50	32-33
7	40-60	29-30
14	50-60	27-28
21	50-60	24-26
28	50-65	21-23
35	50-70	19-21
42	50-70	18

Fonte: Cobb-Vantress.

4.1. Análises microbiológicas

Para a avaliação microbiológica foram coletadas amostras cloacais das aves por meio de *suabe*. No período que antecedeu o estresse térmico 1, 2, 5 e 15 dias de idade foram coletadas 16 amostras e aos 21, 35 e 42 dias, idade em que os animais foram submetidos às diferentes durações de estresse térmico de 0, 24, 48 e 72 horas coletaram-se 48 amostras. As amostras cloacais foram acondicionadas em recipiente estéril contendo 10mL de meio para transporte de amostra Cary e Blair (BRASIL, 1995) e foram encaminhadas para o laboratório de microbiologia do centro de tecnologia de carnes (CTC) do Itai de Campinas.

4.1.1 Preparo das diluições dos suabes (APHA, 2001)

De cada amostra foi retirada, assepticamente, 1mL da solução de transporte dos suabes e colocados em 9mL de água peptonada a 0,1% esterilizada e após homogeneização em aparelho Stomacher por um minuto, foi obtida a diluição inicial 10^{-1} . A seguir, foram preparadas diluições decimais até 10^{-5} utilizando-se o mesmo diluente.

4.2. Detecção de *Campylobacter* spp

Para a detecção confirmativa de *Campylobacter* spp foi utilizado o método SimPlate, de acordo com as especificações do fabricante BIOCONTROL (2010). Inicialmente foram adicionados 1mL da amostra, 9mL de água destilada estéril, 0,025mL de Rifampicina e 0,04mL de Hemin em cada tudo do substrato para hidratá-los. Em seguida esta mistura foi adicionada no centro das placas e foi distribuída em todas as cavidades, efetuando movimentos circulares. As placas foram incubadas em posição invertida por 48 horas a 42°C no escuro em condições de microaerofilia (5% de O₂, 10% de CO₂ e 85% de N₂), em jarras de anaerobiose. Após a incubação as cavidades foram observadas e as que apresentaram mudança de cor, do amarelo para vermelho foi considerado resultado presuntivo positivo. E estas placas, que apresentaram as cavidades coloridas, foram observadas em câmara de fluorescência com luz UV de 365nm e as cavidades coloridas que não apresentaram fluorescência, foram consideradas presuntivas positivas para *Campylobacter*. Para determinar resultados positivos confirmativos deve-se subtrair o número de cavidades vermelhas e fluorescentes e utilizar a tabela de conversão do SimPlate para obter a contagem total de *Campylobacter* por placa.

4.3. Determinação da população de *Escherichia coli*

Para a análise de *Escherichia coli*, foi utilizado o método do número mais provável descrito por HUNT & RICE (2005). Foram utilizados uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose com 4-metilumbeliferil-β-D-glicuronídeo (LST-MUG) por diluição, adicionando 1mL da diluição em cada tubo com 10mL de LST-MUG. Em seguida os tubos foram incubados a 35±0,5°C por 24h para observação de desenvolvimento e/ou produção de gás. Nas amostras com

resultado positivo, ou seja, com crescimento e/ou produção de gás, os tubos foram observados sob lâmpada de luz ultravioleta (6w), ondas longas (365nm). Aquelas que apresentaram o desenvolvimento de fluorescência azul foram confirmadas como positivas para *Escherichia coli*. O resultado foi baseado em tabela do numero mais provável (NMP).

4.4. Determinação da população de Enterobacteriaceas totais

Para as análises de Enterobacteriaceas totais foi utilizado o método de contagem em placas descrito por KORNACKI & JOHNSON (2001). Foi inoculado 1mL de cada diluição em placas de petri estéreis vazias, adicionando-se em seguida o Agar vermelho violeta bile com Glicose (VRBG) e após a completa solidificação do meio, foi coberto com um sobre camada do mesmo meio. As placas foram incubadas invertidas, a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24h. Após o período de incubação, foi feita a contagem das colônias típicas de Enterobacteriaceas totais.

4.5. Determinação da população de bactérias lácticas

Para as análises de bactérias lácticas foi utilizado o método de contagem em placas segundo HALL & YOUSEF (2004). Foi inoculado 1mL de cada diluição em placas de Petri estéreis vazias, adicionando-se em seguida o meio de cultura de Man Rogosa & Sharpe (MRS). As placas foram incubadas invertidas a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 72h. Após o período de incubação foram selecionadas as placas com colônias e contadas, sendo que pelo menos cinco colônias presentes nas placas foram selecionadas para posterior coloração de Gram e teste de catalase.

4.6. Isolamento, seleção e identificação de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR)

Foi utilizada para detectar a existência dos patógenos *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, a metodologia de Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (RT-PCR) (BIOCONTROL/USA, 2010) atualmente aceita para uso pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) pela especificidade apresentada.

O processo da RT-PCR foi realizado conforme o treinamento e recomendações do fabricante para o modelo Assurance GDS Rotor-Gene®. Se houvesse confirmação de *Salmonella* spp. estas amostras seguiriam para: pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, plaqueamento diferencial, confirmação preliminar das colônias típicas de *Salmonella* spp. e teste sorológico somático polivalente.

4.6.1. Pré-enriquecimento

Foi homogeneizado uma porção de 1mL da amostra de *suabe* cloacal em 9mL de água peptonada tamponada 0,1% e incubado a 37°C por 18h.

4.6.2. Enriquecimento seletivo

Agitou-se cuidadosamente o tubo de pré enriquecimento e transferiu-se 0,1mL para 10mL de caldo Rappaport Vassiliadis e 1mL para 10mL de caldo Tetracionato. O caldo Rappaport Vassiliadis foi incubado a 41,5±1°C por 24h e o caldo Tetracionato a 37±1°C por 24h.

4.6.3. Plaqueamento diferencial

Os tubos de enriquecimento seletivo foram agitados em agitador tipo “vortex” e uma alçada do caldo Tetrionato foi estriada em placas de Ágar Bismuto Sulfito e Ágar Xilose Lisina Desoxicilato. O mesmo procedimento foi repetido com o caldo Rappaport Vassiliadis. As placas foram incubadas invertidas a 35°C por 24h para verificar o desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella* spp.

4.6.4. Confirmação preliminar das colônias típicas de *Salmonella* spp

Ao encontrar uma colônia sugestiva, com o auxílio de uma agulha de inoculação, removia-se uma porção da massa de células do centro da colônia típica e inoculada em tubos inclinados de Ágar Lisina Ferro e Ágar Tríplice Açúcar Ferro. Foram selecionadas duas colônias típicas de cada placa e a inoculação foi feita por picada e estrias na rampa, utilizando-se a mesma alçada para inocular ambos os tubos. Os tubos foram incubados a 35±1°C por 24h e observada a reação típica de *Salmonella* spp.

4.6.5. Teste sorológico somático polivalente

Foram marcados dois quadrados de aproximadamente 2cm² em lâmina de vidro, usando um lápis de marcar vidro de material hidrofóbico. A partir da cultura de 24 horas em TSI, foi transferida uma alçada para cada um dos quadrados demarcados, posicionando a cultura na parte superior do quadrado. Uma gota da solução salina fisiológica estéril foi adicionada na posição inferior de um dos quadrados e a cultura foi bem emulsionada. Sobre a parte inferior do outro quadrado, foi adicionada uma gota do soro somático polivalente anti *Salmonella* spp. Segurando a lâmina contra um fundo preto bem iluminado, foram feitos delicados movimentos de inclinação e rotação da lâmina, para movimentar a

emulsão, observando a ocorrência de aglutinação no quadrado com o soro. Foi comparada com a aparência da emulsão do quadrado com salina (controle negativo), para não confundir a aparência turva da emulsão com reação de aglutinação.

4.7. Análises físicas e químicas da carne

As carcaças foram encaminhadas para o laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal da FCAV – UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP, onde foram realizadas as análises físicas e químicas, descritas abaixo, do músculo *Pectoralis major*.

4.7.1. Determinação do valor R

Foi determinado de acordo com a metodologia descrita por HONIKEL & FISCHER (1977). Essa avaliação se baseou na extração dos nucleotídeos, através de homogeneização com solução de ácido perclórico 1 M, na proporção de 1:10 em m v⁻¹. Após filtragem, uma alíquota de 0,1mL foi diluída em 4,9mL de tampão fosfato a 0,1 M, em pH 7,0 e promovida a leitura a 250 nm (monofosfato de inosina) e 260 nm (trifosfato de adenosina) em espectrofotômetro. O valor R foi determinado com base na razão entre as duas absorbâncias.

4.7.2. Determinação do pH

Foi determinado mediante utilização de um peagâmetro digital Testo 205, com a introdução direta do eletrodo na parte interna das amostras.

4.7.3. Determinação da perda de peso por cozimento

Para determinar a perda de peso por cozimento (PPC), as amostras foram pesadas e embaladas em sacos plásticos e cozidas em banho-maria a 85°C por 30 minutos até atingirem temperatura interna de 75°C. Em seguida as amostras foram retiradas dos sacos e deixadas sob condições de temperatura ambiente e pesadas novamente para o cálculo das perdas (CASON et al., 1997).

4.7.4. Determinação da força de cisalhamento

A maciez foi analisada através da força de cisalhamento das amostras após cocção, tomada perpendicular à orientação das fibras musculares, com a lâmina Warner-Bratzler adaptada no texturômetro Stable Mycro Systems TA-XT2i e os resultados foram expressos como força máxima de cisalhamento em kilograma força/cm² (kgf/cm²) (WHEELER et al., 1996).

4.7.5. Determinação da capacidade de retenção de água

A avaliação da Capacidade de Retenção de Água (CRA) foi realizada com 1,0 g de amostra colocadas entre dois papéis filtro e posteriormente entre duas placas de acrílico sob peso de 10 kg por 5 min. Após esse período, as amostras foram novamente pesadas e o cálculo da média de CRA determinado (HAMM 1960).

4.7.6. Determinação da cor

A coloração foi determinada pelo aparelho Minolta Chrome Meter CR-300, utilizando-se o sistema CIELAB através da leitura dos parâmetros L^* (que representa a porcentagem de luminosidade, preto 0% e branco 100%), a^* ($-a^*$

verde e +a* vermelho) e b* (-b* azul e +b* amarelo). A coloração do músculo *Pectoralis major* foi determinada na parte interna, visando evitar efeitos do processo de abate.

4.7.7. Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) resultantes da oxidação lipídica das amostras de carne de frango foram determinadas segundo método descrito por PIKUL et al., (1989). As amostras em triplicata, pesando em torno de 10 g foram homogeneizadas com 50mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5%. O sobrenadante foi filtrado e alíquotas de 4mL foram tratadas com 5mL de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA), colocadas em banho fervente, esfriadas e medidas em espectrofotômetro a 538 nm. Os resultados foram expressos em miligramas de substâncias reativas ao TBA (TBARS) por 1000 g de amostra.

5. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 X 4 (temperaturas – termoneutra e estresse – e duração do estresse), com 4 repetições. As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa estatístico SAS[®] (2002).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Avaliação microbiológica

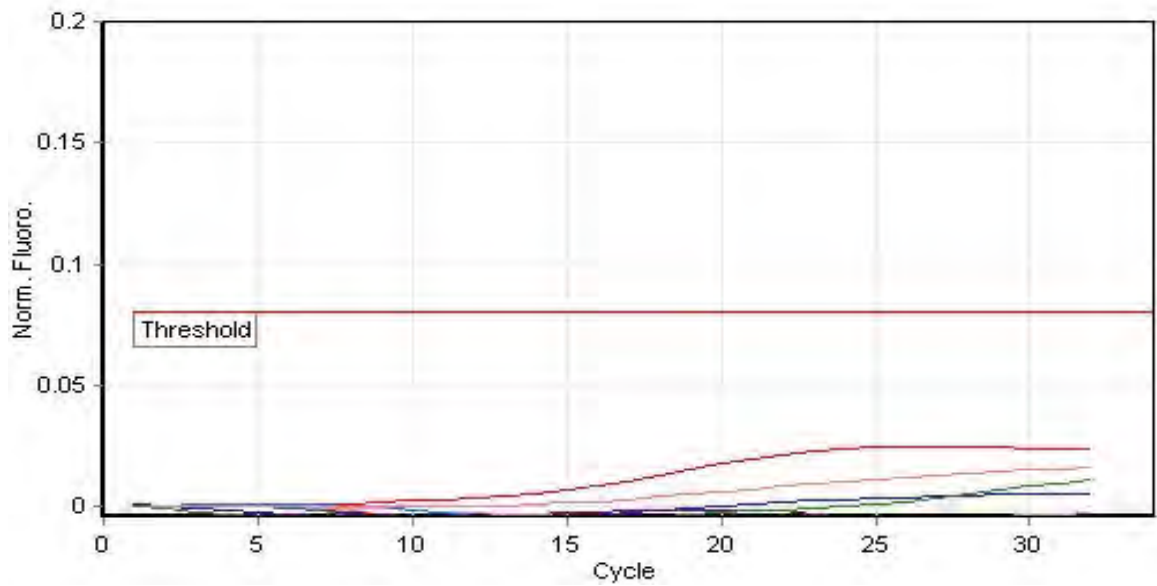
Os resultados da pesquisa de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* spp. das amostras cloacais das aves, obtidas por meio de *suabe*

estão expressos na Tabela 3. Nota-se que todos os resultados foram negativos durante todas as fases experimentais.

Tabela 3. Resultados da pesquisa de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* spp. em amostras cloacais obtidas por meio de *suabe* das aves submetidas ao estresse térmico.

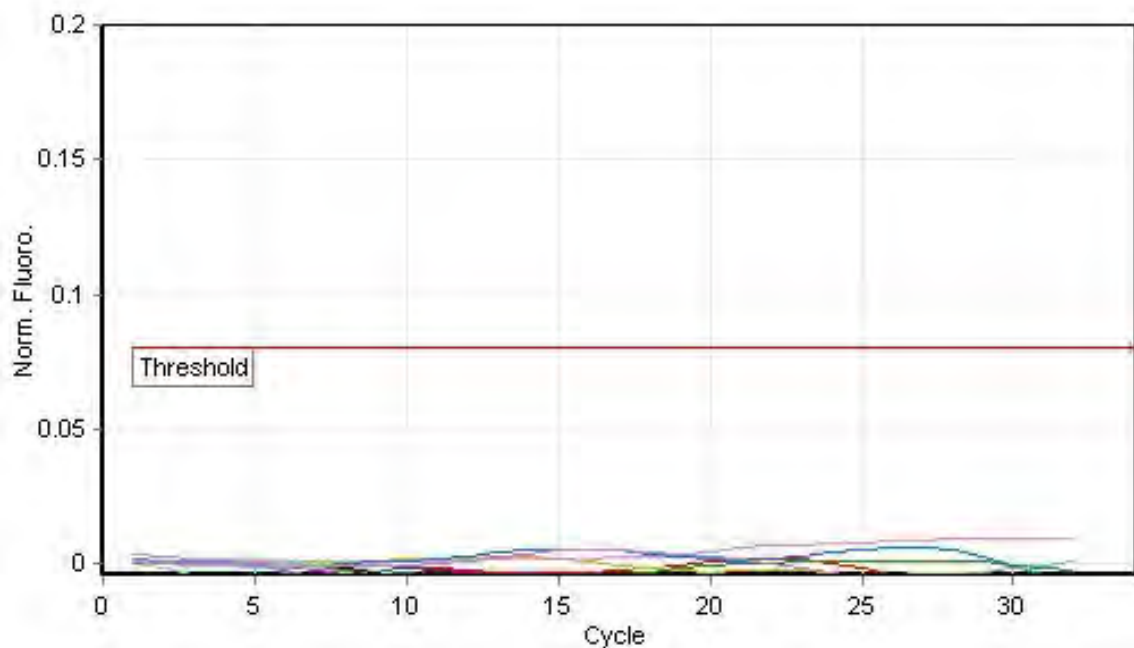
Amostra	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Listeria</i> <i>Monocytogenes</i>	<i>Campylobacter</i> spp.
Termoneutra	0/24	0/24	0/24
Estresse	0/24	0/24	0/24
Total	0/48	0/48	0/48

As Figuras 1 e 2 mostram os gráficos da PCR gerados pelo aparelho GDS®, no qual cada amostra é representada por uma linha colorida. As amostras abaixo da linha horizontal vermelha (*Threshold*) são negativas no teste da PCR para *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*.



No.	Colour	Name	Result	Assay	Kit Lot Number	Description
11	■	1684	Negative	Salmonella	052810-11	Repeticão
12	■	1685	Negative	Salmonella	052810-11	Repeticão
13	■	1686	Negative	Salmonella	052810-11	Repeticão
14	■	1687	Negative	Salmonella	052810-11	Repeticão
15	■	1688	Negative	Salmonella	052810-11	Repeticão
16	■	1689	Negative	Salmonella	052810-11	Repeticão
17	■	1690	Negative	Salmonella	052810-11	Repeticão
18	■	1691	Negative	Salmonella	052810-11	Repeticão
19	■	1692	Negative	Salmonella	052810-11	Repeticão

Figura 1. Gráfico da PCR do resultado da pesquisa de *Salmonella* spp. gerado pelo GDS®.



No.	Colour	Name	Result	Assay	Kit Lot Number	Description
1	Red	2279	Negative	Listeria monocytogenes	032310-02	
2	Yellow	2280	Negative	Listeria monocytogenes	032310-02	
3	Blue	2281	Negative	Listeria monocytogenes	032310-02	
4	Purple	2282	Negative	Listeria monocytogenes	032310-02	
5	Pink	2283	Negative	Listeria monocytogenes	032310-02	
6	Blue	2284	Negative	Listeria monocytogenes	032310-02	
7	Teal	2285	Negative	Listeria monocytogenes	032310-02	
8	Red	2286	Negative	Listeria monocytogenes	032310-02	
9	Green	2287	Negative	Listeria monocytogenes	032310-02	

Figura 2. Gráfico da PCR do resultado da pesquisa de *Listeria monocytogenes* gerado pelo GDS®.

Os resultados da contagem de bactérias lácticas, *Escherichia coli* e Enterobacteriaceas totais em *suabes* de cloaca estão expressos nas Figuras 3, 4 e 5.

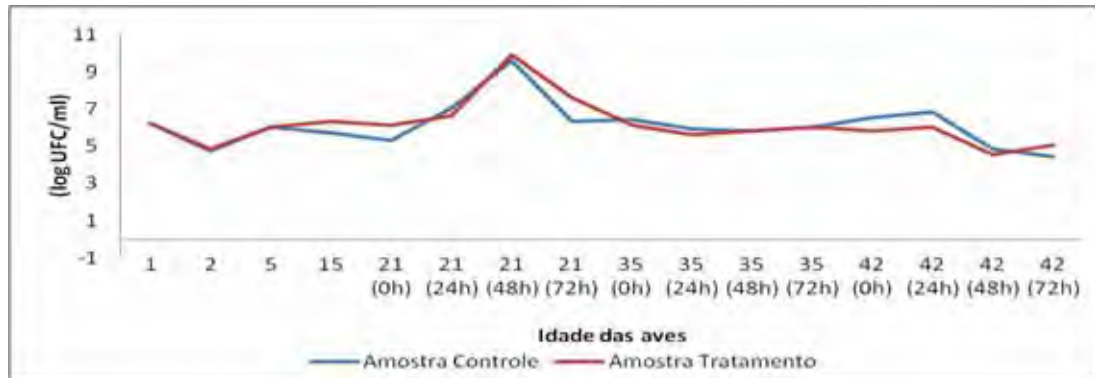


Figura 3. Resultados da contagem de bactérias lácticas em amostras cloacais obtidas por meio de *suabe* das aves no: 1, 2, 5, 15, 21 (0h, 24h, 48h, 72h), 35 (0h, 24h, 48h, 72h) e 42 (0h, 24h, 48h, 72h) dias experimentais.

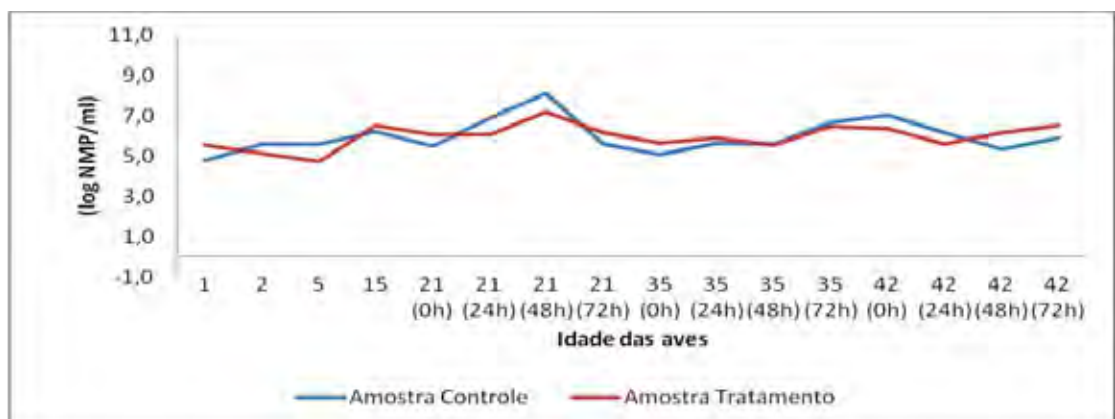


Figura 4. Resultados da pesquisa de *Escherichia coli* em amostras cloacais obtidas por meio de *suabe* das aves no: 1, 2, 5, 15, 21 (0h, 24h, 48h, 72h), 35 (0h, 24h, 48h, 72h) e 42 (0h, 24h, 48h, 72h) dias experimentais.



Figura 5. Resultados da pesquisa de Enterobacteriaceas totais em amostras cloacais obtidas por meio de *suabe* das aves no: 1, 2, 5, 15, 21 (0h, 24h, 48h, 72h), 35 (0h, 24h, 48h, 72h) e 42 (0h, 24h, 48h, 72h) dias experimentais.

Os resultados das análises das 16 amostras cloacais obtidas por meio de *suabe* das aves nos primeiros dias de vida dos animais foram utilizados para o acompanhamento das condições microbiológicas que antecedem o estresse térmico das aves.

Nota-se que não houve diferença significativa (Figuras 3, 4 e 5) na incidência de bactérias lácticas, *Escherichia coli* e Enterobacteriaceas totais entre as amostras dos animais que foram criados à temperatura termoneutra e os que foram submetidos ao estresse térmico de $32^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Observa-se também que em todas as amostras, há um aumento significativo de Log UFC/mL ou Log NMP/mL no período de 21 dias, porém não se pode afirmar a correlação com o estresse térmico agudo, visto que tanto as amostras controle quanto as amostras de tratamento apresentaram o mesmo perfil.

A determinação da população de Enterobacteriaceas totais foi importante por ser um grupo de microrganismo indicador e frequentemente presente no trato gastrointestinal das aves. As bactérias lácticas estão ligadas a proteção contra microrganismos patogênicos e a determinação desta população foi importante, pois em condições de estresse térmico pode ocorrer queda no número de bactérias lácticas contribuindo para que as bactérias patogênicas se sobressaiam. Desta forma, esperam-se possíveis quedas nos índices zootécnicos e fisiológicos dos

animais, fato não observado neste estudo uma vez que o estresse térmico não favoreceu este episódio.

Na literatura disponível, não foram encontrados artigos que tenham avaliado a relação do estresse térmico com a incidência de bactérias lácticas, *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, Enterobacteriaceas totais e *Listeria monocytogenes*. Entretanto, alguns autores sugerem que após o estresse térmico pode haver maior incidência de microrganismos patogênicos, pois o aumento da temperatura provoca diminuição na imunidade das aves, propiciando maior colonização no intestino desses animais. QUINTEIRO-FILHO et al. (2010) verificaram que o estresse por calor foi capaz de aumentar as unidades formadoras de colônias de *Samonella* spp. (UFC/g) no baço dos animais causando redução no ganho de peso e no consumo de ração, com aumento da mortalidade.

6.2. Qualidade física e química da carne

Os resultados obtidos para substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) da carne de frangos de corte com 21 dias, são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Médias obtidas para substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs), capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) da carne de frangos de corte com 21 dias de idade.

	TBARs (mg TMP/Kg am)	CRA (%)	FC (Kgf/cm ²)	PPC (%)
Temperatura (T)				
Termoneutra	0,021	70,90A	0,90A	30,44A
Estresse	0,266	69,86A	0,99A	31,12A
Teste F	190,00**	1,78 ^{NS}	0,88 ^{NS}	0,80 ^{NS}
Duração do estresse em horas (D)				
0	0,077	73,71A	1,17A	30,97A
24	0,109	68,37B	1,02A	31,44A
48	0,148	68,49AB	0,86AB	31,27A
72	0,243	70,95AB	0,74B	29,44A
Teste F	34,04**	10,62**	3,38**	1,45 ^{NS}
F Int. TxD	30,39**	0,72 ^{NS}	0,35 ^{NS}	0,18 ^{NS}
CV (%)	11,37	3,77	16,71	8,55

Na mesma coluna, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); ** (P<0,01); CV= Coeficiente de variação.; NS = Não significativo.

Houve interação significativa entre temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse para as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (P<0,01), cujo desdobramento está descrito na Tabela 5. O teste estudado trata-se da avaliação da reação do ácido tiobarbitúrico com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos. Um dos principais produtos formados no processo oxidativo é o malonaldeído. Essa molécula de malonaldeído reage com as moléculas de ácido tiobarbitúrico para formar um complexo de cor vermelha, aferidos em espectrofotômetro permitindo avaliar o grau de oxidação lipídica.

Não houve interação (P>0,05) entre temperaturas (termoneutra e estresse) e duração do estresse térmico para as variáveis: capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) aos 21 dias de idade.

Pelos resultados da capacidade de retenção de água (CRA) e força de cisalhamento (FC), nota-se que a duração do estresse térmico alterou significativamente estas características (P<0,01).

A capacidade de retenção de água da carne foi inferior para as aves que foram submetidas a 24 horas de estresse, pois houve diferença estatística ($P < 0,01$) entre as que foram submetidas à 0 hora de estresse. Entretanto, o resultado da capacidade de retenção de água menor condiz com a noção de que a queda de pH durante a maturação, para as aves que foram submetidas a 24 horas de estresse, resultou em desnaturação das proteínas miofibrilares. Desta forma, esse tipo de carne pode causar transtornos irreparáveis durante a industrialização proporcionando rendimentos deficientes durante o processamento, devido à dificuldade de não reter água como uma carne normal. Esses resultados são semelhantes aos que foram reportados por FISCHER et al. (2005), que encontraram menor CRA para o peito dos frangos criados sob condições de estresse.

A maciez é um fator bastante importante na percepção do consumidor quanto à qualidade da carne (BRESSAN, 1998). Está intimamente relacionada à quantidade de água intramuscular e, portanto, à capacidade de retenção de água da carne, de modo que quanto maior o conteúdo de água fixada no músculo, maior a maciez da carne (ANADÓN, 2002). De acordo com os resultados obtidos, verifica-se que a duração do estresse térmico de 72 horas provocou maior maciez na carne comparado aos outros períodos de 0 e 24 horas coincidindo com alto valor da capacidade de retenção de água.

Através do desdobramento da interação entre temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse térmico (Tabela 5), verifica-se que o grau de oxidação dos lipídeos da carne das aves que foram submetidos ao estresse térmico foi maior. Isso é esperado, pois a elevada temperatura corporal pode estimular a liberação de corticosteróides iniciando a peroxidação dos lipídios de membrana, aumentando a oxidação da carne das aves que foram submetidas ao estresse térmico de $32^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Tabela 5. Desdobramento da interação entre temperatura e duração do estresse em horas para as médias das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs) da carne de frangos de corte com 21 dias de idade.

Temperatura (T)	Duração do estresse em horas (D) – TBARs (mg TMP/Kg am)			
	0	24	48	72
Termoneutra	0,026Ba	0,027Ba	0,009Aa	0,019Ba
Estresse	0,085Ac	0,538Aa	0,163Ab	0,277Ab

Na mesma coluna, médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); na mesma linha, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

O estresse térmico ainda pode ocasionar distúrbios no balanço entre a oxidação e os sistemas antioxidantes de defesa, causando peroxidação lipídica e injúrias oxidativas às proteínas e ao DNA (DROGE, 2002). Desta forma a qualidade desta carne será inferior, pois a oxidação lipídica é uma das maiores causas de deterioração, contribuindo para a redução da vida útil dos produtos (VERCELLOTTI et al., 1992).

Na Tabela 6 são mostrados os resultados obtidos para as análises de luminosidade (L*), intensidade de vermelho (a*), intensidade de amarelo (b*), pH e valor de R da carne de frangos de corte com 21 dias de idade.

Observa-se que houve interação significativa entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse apenas para a variável pH ($P < 0,01$) e o desdobramento encontra-se na Tabela 7.

Tabela 6. Médias obtidas para luminosidade (L*), intensidade de vermelho (a*), intensidade de amarelo (b*), pH e valor de R da carne de frangos de corte com 21 dias de idade.

	L*	a*	b*	pH	Valor R
Temperatura (T)					
Termoneutra	50,19A	3,64A	2,76A	5,71	0,86B
Estresse	49,54A	3,39A	2,69A	5,58	0,96A
Teste F	0,56 ^{NS}	1,13 ^{NS}	0,07 ^{NS}	13,69**	9,37**
Duração do estresse em horas (D)					
0	48,85A	2,91B	2,67A	5,79	0,73B
24	50,26A	3,22AB	2,87A	5,57	0,88A
48	50,96A	4,01A	2,53A	5,62	0,95A
72	49,44A	3,92A	2,82A	5,61	1,08A
Teste F	1,10 ^{NS}	5,21**	0,33 ^{NS}	7,00**	18,74**
F Int. TxD	0,17 ^{NS}	0,14 ^{NS}	0,25 ^{NS}	6,62**	1,69 ^{NS}
CV (%)	6,08	18,22	10,45	2,17	12,35

Na mesma coluna, médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); ** (P<0,01); CV= Coeficiente de variação.; NS = Não significativo.

A luminosidade (L*) e intensidade de amarelo (b*) e intensidade de vermelho (a*) da carne dos frangos de corte com 21 dias, não apresentaram diferenças significativas entre as temperaturas (termoneutras e estresse) testadas e não foram influenciados pelos períodos de exposição à temperatura elevada (P>0,05). Quanto ao teor de vermelho (a*), observa-se aumento significativo (P<0,05) no peito das aves que permaneceram em ambiente quente por 48 e 72 horas, em relação a aves que não foram expostas ao estresse. A maioria dos autores encontrou maior teor de vermelho no músculo de aves criadas em clima frio, relatando que a temperatura de criação tem maior influência no desenvolvimento do tipo de fibra muscular. DUCHAMP et al. (1992) mostraram que em patos aclimatados ao frio, o músculo esquelético desenvolveu alterações estruturais e funcionais de forma a aumentar a capacidade oxidativa, indicada por um aumento na proporção de fibras oxidativas.

O valor de R diferiu (P<0,05) entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e na duração ao calor do ambiente. Este representa uma medida indireta da depleção de ATP no músculo, durante o desenvolvimento do *rigor mortis*,

sendo maior à medida que o ATP é consumido. De acordo com estes resultados, pode-se afirmar que aves submetidas ao estresse térmico por 24, 48 e 72 horas tiveram uma redução de ATP no músculo mais acelerada resultando em maior valor de R e instalação de *rigor mortis* acelerado. Estes resultados foram semelhantes aos reportados por MARCHI et al. (2010), que encontraram maiores valores de R, para as aves submetidas a estresse térmico de 35°C.

Pelos resultados da Tabela 7, nota-se que o valor de pH da carne das aves com 21 dias submetidas ao estresse térmico durante 24 horas foi inferior diferindo significativamente ($P < 0,05$) do grupo controle.

Tabela 7. Desdobramento da interação entre temperatura e duração do estresse em horas para as médias de pH da carne de frangos de corte com 21 dias de idade.

Temperatura (T)	Duração do estresse em horas (D) – pH			
	0	24	48	72
Termoneutra	5,58Aa	5,99Ab	5,63Aa	5,63Aa
Estresse	5,54Aa	5,61Ba	5,60Aa	5,60Aa

Na mesma coluna, médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); na mesma linha, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

O valor mais baixo de pH nos animais que foram submetidos ao estresse térmico, pode estar relacionado à aceleração das reações de glicólise *post mortem*. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por outros autores que evidenciaram que o estresse térmico acarreta menor valor do pH (MCKEE & SAMS, 1997). HOLM & FLETCHER (1997) estudaram a influência do estresse térmico sobre parâmetros de qualidade de carne em frangos e observaram que um estresse de 12 horas, antes do abate, induziu um pH final abaixo do normal, uma menor perda de peso por cocção (PPC) e aumento da rigidez da carne de peito de frango.

Músculos que apresentam valores de pH menores que 5,8 em torno de 15 minutos após o abate, quando a carcaça ainda se encontra em temperaturas próximas da fisiológica, geralmente sofrem uma desnaturação parcial das

proteínas que o compõem comprometendo suas propriedades funcionais (BARBUT, 1998; TANKSON et al., 2001).

Estão apresentados na Tabela 8 os resultados obtidos para substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) da carne de frangos de corte com 35 dias de idade.

Tabela 8. Médias obtidas para substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs), capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) da carne de frangos de corte com 35 dias de idade.

	TBARs (mg TMP/Kg am)	CRA (%)	FC (Kgf/cm ²)	PPC (%)
Temperatura (T)				
Termoneutra	0,008	73,18A	1,63A	27,94A
Estresse	0,065	70,07B	1,28B	27,87A
Teste F	179,01**	12,50**	17,72**	0,01 ^{NS}
Duração do estresse em horas (D)				
0	0,021	72,08A	1,54AB	27,65A
24	0,031	71,83A	1,79A	27,98A
48	0,041	71,47A	1,29BC	29,08A
72	0,059	71,15A	1,19C	26,89A
Teste F	19,67**	0,23 ^{NS}	10,07**	1,76 ^{NS}
F Int. TxD	19,37**	1,96 ^{NS}	0,42 ^{NS}	1,24 ^{NS}
CV (%)	14,35	4,21	19,67	8,08

Na mesma coluna, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); ** (P<0,01); CV= Coeficiente de variação.; NS = Não significativo.

Diante dos resultados (Tabela 8), nota-se que houve interação significativa entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse para as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (P<0,01), cujo desdobramento está descrito na Tabela 9.

Não houve interação (P>0,05) entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse térmico para as variáveis: capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) aos 35 dias de idade.

Conforme verificado na Tabela 8, houve diferença estatística ($P < 0,05$) entre os valores de capacidade de retenção de água (CRA) obtidos para as aves nas diferentes temperaturas (termoneutra e estresse). A capacidade de retenção de água, uma das principais características de rendimento no processamento do produto, foi menor nas aves estressadas por calor, com isso, teremos uma reduzida suculência (FLETCHER, 2002), além de menor vida útil do produto (BARBUT, 2002). Os dados obtidos estão de acordo com os que foram encontrados na literatura (WOEFEL et al., 2002), que verificou uma tendência de redução da capacidade de retenção de água em carnes oriunda de animais estressados antes do abate.

Os resultados da força de cisalhamento (Tabela 8) mostram que as diferentes temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse influenciaram na maciez da carne ($P < 0,05$). A maciez aumentou nas aves que foram submetidas a temperaturas elevadas por um período de 72 horas de estresse, diferindo significativamente de 0 e 24 horas. Esses resultados discordam daqueles obtidos por LEE et al., (1976) que, investigando tratamentos de calor (38°C), frio ($4,0^{\circ}\text{C}$) e frio extremo (-20°C) aplicados por 6 horas, comparado a temperaturas ambientais pré-abate de (20°C), encontraram maior FC em aves estressadas por calor.

A perda de peso por cozimento (PPC) da carne dos frangos de corte com 35 dias, não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) nas temperaturas (termoneutra e estresse) e não foram influenciados pelos períodos de exposição à temperatura elevada. Os resultados deste estudo concordam, com os dados obtidos por OBA et al. (2007), onde as temperaturas de criação de 32°C (quente), 26°C (termoneutra) e 18°C (fria) para animais com 47 dias, não influenciaram essa característica.

Ao analisar o desdobramento da interação entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse térmico (Tabela 9), verifica-se maior oxidação dos lipídeos na carne das aves que foram submetidas ao estresse térmico.

Tabela 9. Desdobramento da interação entre temperatura e duração do estresse em horas para as médias das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs) da carne de frangos de corte com 35 dias de idade.

Temperatura (T)	Duração do estresse em horas (D) – TBARs (mg TMP/Kg am)			
	0	24	48	72
Termoneutra	0,004Ba	0,013Ba	0,007Ba	0,007Ba
Estresse	0,021Ac	0,061Ab	0,069Ab	0,111Aa

Na mesma coluna, médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); na mesma linha, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Estes dados condizem com os que foram encontrados por outros autores, pois os mesmos reportam que o estresse térmico induz ao aumento da geração de radicais livres originando carnes com maiores taxas de oxidação lipídica. A produção de níveis excessivos de radicais livres, enquanto o animal ainda está vivo, pode ser estimulada por condições estressantes (MAHMOUD & EDENS, 2003). LIN et al. (2006) investigaram frangos expostos a um estresse térmico agudo (32°C por seis horas) e pelos resultados desse estudo, sugeriram que a elevada temperatura corporal pode induzir alterações metabólicas que envolvem o estresse oxidativo elevando os níveis de TBARS no plasma e no fígado em comparação com os frangos controle.

Não se observa na Tabela 10, interação significativa ($P > 0,05$) entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse para coloração (L^* , a^* e b^*), pH e valor de R da carne de frangos de corte com 35 dias.

Tabela 10. Médias obtidas para luminosidade (L*), intensidade de vermelho (a*), intensidade de amarelo (b*), pH e valor de R da carne de frangos de corte com 35 dias de idade.

	L*	a*	b*	pH	Valor R
Temperatura (T)					
Termoneutra	49,92A	3,23A	0,71A	5,53A	0,97A
Estresse	48,27B	3,48A	0,68A	5,59A	0,96A
Teste F	7,73**	0,91 ^{NS}	0,06 ^{NS}	1,69 ^{NS}	0,00 ^{NS}
Duração do estresse em horas (D)					
0	49,17A	3,22A	1,38A	5,51A	1,05A
24	48,98A	3,24A	0,35B	5,66A	0,99A
48	49,05A	3,21A	0,77AB	5,56A	0,94A
72	49,18A	3,76A	0,29B	5,52A	0,88A
Teste F	0,03 ^{NS}	1,10 ^{NS}	8,62**	2,77 ^{NS}	1,73 ^{NS}
F Int. TxD	0,39 ^{NS}	0,04 ^{NS}	0,16 ^{NS}	0,47 ^{NS}	1,72 ^{NS}
CV (%)	4,07	14,05	9,03	2,53	13,49

Na mesma coluna, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); ** (P<0,01); CV= Coeficiente de variação.; NS = Não significativo.

A luminosidade (L*) foi influenciada (P<0,05) pelas temperaturas (termoneutra e estresse) sendo observado menor valor de L* no tratamento com estresse. A duração de 24 e 72 horas na qual a aves foram submetidas à alta temperatura, afetou significativamente (P<0,05) a intensidade de amarelo (b*) da carne comparado ao período de 0 hora de estresse. Conforme verificado na Tabela 10, não houve diferença estatística (P>0,05) para os valores de pH e valor de R, para as aves nas diferentes temperaturas (termoneutra e estresse) diferente do que foi visto na carne dos animais com 21 dias.

O parâmetro de cor L* tem sido utilizado para classificar as carnes de frangos em pálidas (L*>53), escuras (L*<46) e normais (46>L*<53) (QIAO et al., 2001). De acordo com os dados obtidos, pode-se afirmar que foi encontrado menor incidência de carne de peito pálida em aves criadas sob condições estressantes. Estes resultados são semelhantes a outros previamente descritos na literatura. FISCHER et al. (2005) encontraram nas carnes de aves submetidas à estresse térmico de 35°C coloração mais escura (<L*) e menos amarelada (<b*). MCKEE & SAMS (1997) observaram que altas temperaturas durante a criação, é um fator

estressor *ante mortem* favorecendo a presença de peito com coloração pálida e BIANCHI et al. (2007) ao estudarem a influência da estação do ano sobre a qualidade da carne de frangos de corte, observaram que aves abatidas durante o verão também exibiram cor pálida do peito, o que contraria os resultados obtidos no presente trabalho (Tabela 10).

Os resultados obtidos para substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) da carne de frangos de corte com 42 dias de idade, são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11. Médias obtidas para substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs), capacidade de retenção de água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) da carne de frangos de corte com 42 dias de idade.

	TBARs (mg TMP/Kg am)	CRA (%)	FC (Kgf/cm ²)	PPC (%)
Temperatura (T)				
Termoneutra	0,010	72,32A	2,15B	28,88A
Estresse	0,081	73,92A	2,74A	29,15A
Teste F	145,94**	1,67 ^{NS}	16,88**	0,11 ^{NS}
Duração do estresse em horas (D)				
0	0,023	73,47A	1,87B	26,81B
24	0,047	72,69A	2,90A	29,60AB
48	0,049	73,63A	2,49A	30,64A
72	0,063	72,68A	2,52A	26,98AB
Teste F	8,26**	0,16 ^{NS}	8,94**	3,87*
F Int. TxD	5,19**	2,00 ^{NS}	2,54 ^{NS}	1,49 ^{NS}
CV (%)	10,52	5,80	15,05	9,80

Na mesma coluna, médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); *(P<0,05); ** (P<0,01); CV= Coeficiente de variação.; NS = Não significativo.

Houve interação significativa (P<0,01) entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse para as substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, cujo desdobramento encontra-se na Tabela 12.

Não houve interação (P>0,05) entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse térmico para as variáveis: capacidade de retenção de

água (CRA), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) aos 42 dias de idade.

Dos parâmetros avaliados apenas a capacidade de retenção de água não diferiu significativamente ($P>0,05$) nas temperaturas (termoneutra e estresse) e nas durações do estresse térmico, ao contrário do que ocorreu aos 21 e 35 dias.

Observa-se que a carne das aves que permaneceram por 24, 48 e 72 horas à temperatura elevada apresentou-se mais rígida, diferindo do período de 0 hora ($P<0,05$), acarretando em diminuição na qualidade deste tipo de carne. Entretanto, as taxas mais elevadas da força de cisalhamento indicam que houve menor potencial proteolítico *post mortem* levando a uma diminuição da maciez. Concordando com os resultados do presente trabalho, em peito de perus, FRONING et al. (1978), utilizando temperaturas de 42°C por 1h e 4°C por 20 min, encontraram médias de 5,88 e 4,44kgf/g, respectivamente.

Os resultados indicam que a perda de peso por cozimento (PPC) em músculos de peito foi influenciada ($P<0,05$) pela duração do estresse. Em peitos de aves mantidas a 32°C \pm 2°C por 48 horas, foi observada maior perda no cozimento, com média de 30,64%, do que em peitos de aves submetidas a 32°C \pm 2°C por 0 hora, com média de 26,81%. Alguns autores relatam que a maior velocidade na instalação do *rigor mortis* acarreta em maiores perdas de peso no cozimento, mas esta hipótese não condiz com os resultados obtidos neste trabalho, pois o valor de R não diferiu estatisticamente ($P>0,05$) na duração do estresse (Tabela 13). BRESSAN & BERAQUET (2002), relataram que a PPC em músculos de peito foi influenciada pelas temperaturas ambientais pré-abate. As aves que foram mantidas a 30°C apresentaram carne com perda de peso por cocção (28,7%) maior do que as aves criadas a 17°C (27,2%).

O desdobramento da interação entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse térmico (Tabela 12), mostra maior oxidação lipídica na carne das aves que foram submetidas ao estresse térmico e aos períodos de 24, 48 e 72 horas de estresse comparado ao período de 0 hora.

Tabela 12. Desdobramento da interação entre temperatura e duração do estresse em horas para as médias das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARs) da carne de frangos de corte com 42 dias de idade.

Temperatura (T)	Duração do estresse em horas (D) – TBARs (mg TMP/Kg am)			
	0	24	48	72
Termoneutra	0,015Ba	0,005Ba	0,011Ba	0,009Ba
Estresse	0,041Ab	0,083Aa	0,089Aa	0,112Aa

Na mesma coluna, médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); na mesma linha, médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Estes resultados sugerem que a elevada temperatura induziu alterações metabólicas que envolvem o estresse oxidativo, como foi visto anteriormente aos 21 e 35 dias.

Não houve interação ($P > 0,05$) entre as temperaturas (termoneutra e estresse) e a duração do estresse térmico para as variáveis de cor (L^* , a^* e b^*), pH e valor de R aos 42 dias de idade (Tabela 13).

Tabela 13. Médias obtidas para luminosidade (L*), intensidade de vermelho (a*), intensidade de amarelo (b*), pH e valor de R da carne de frangos de corte com 42 dias de idade.

	L*	a*	b*	pH	Valor R
Temperatura (T)					
Termoneutra	49,48A	2,86A	0,59A	5,59A	0,91A
Estresse	48,84A	2,57A	0,89A	5,64A	0,94A
Teste F	0,61 ^{NS}	2,19 ^{NS}	1,89 ^{NS}	0,72 ^{NS}	0,88 ^{NS}
Duração do estresse em horas (D)					
0	48,92A	2,62A	0,86A	5,45B	0,94A
24	48,83A	2,55A	0,84A	5,48B	0,96A
48	48,07A	3,12A	0,80A	5,52B	0,87A
72	49,83A	2,57A	0,76A	6,01A	0,94A
Teste F	1,08 ^{NS}	1,95 ^{NS}	0,61 ^{NS}	30,51 ^{**}	1,49 ^{NS}
F Int. TxD	0,14 ^{NS}	0,81 ^{NS}	2,64 ^{NS}	0,26 ^{NS}	0,18 ^{NS}
CV (%)	5,73	15,01	9,57	2,96	11,66

Na mesma coluna, médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%); ** (P<0,01); CV= Coeficiente de variação; NS = Não significativo.

Pelos resultados da coloração (L*, a* e b*) e valor de R, nota-se que a temperatura (termoneutra e estresse) e a duração do estresse não alteraram significativamente (P>0,05) estas características.

Quanto ao pH, observa-se aumento significativo nas carnes de aves que permaneceram em ambiente quente durante 72 horas, em relação aos períodos de 0, 24 e 48 horas (P<0,05). O pH do músculo da carne tem sido associado com outros atributos de qualidade da carne incluindo maciez, capacidade de retenção de água, perdas por cozimento, suculência e estabilidade microbiana. O pH final da carne está intimamente ligado com a concentração de glicogênio muscular momentos antes do abate, pois isto definirá de maneira significativa a queda do pH (ROÇA, 2002). De acordo com os resultados, o maior valor de pH, resulta de um esgotamento das reservas de glicogênio *in vivo*, impossibilitando a queda do pH *post mortem*. Entretanto, pode-se afirmar que o *rigor mortis* da carne não foi eficiente, no processo denominado conversão do músculo em carne.

7. CONCLUSÕES

O estresse térmico agudo não interfere na incidência de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* spp. e na população de Bactérias Láticas, *E.coli* e Enterobacteriaceas totais nas aves.

Constatou-se que o estresse térmico piora a qualidade da carne, pois provoca mudanças em suas propriedades comprometendo a vida útil do produto.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSIT, M., YALÇIN, S., ÖZKAN, S., METIN, K. AND ÖZDEMİR, D. Effects of temperature during rearing and crating on stress parameters and meat quality of broilers. **Poultry Science**, v. 85, p. 1867-1874, 2006.

ALMEIDA, E.A. **Influência do estresse pré-abate na expressão gênica e qualidade da carne de frango (*Gallus gallus*)**. 2007. 67f. Tese (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. Committee on Microbiological for foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p. 4 ed.

ANADÓN, H. L. S. **Biological, nutritional and processing factors affecting breast meat quality of broilers**. 2002. 171f. Thesis (Doctor of Philosophy in Animal and Poultry Sciences) – Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGOS – ABEF. *Estatísticas*. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/Estatisticas>>. Acesso em: 03 ag. 2011.

BARBUT, S. Estimating the magnitude of the PSE problem in poultry. **Journal of Muscle Food**, Malden, v.9, p.35-49, 1998.

BARBUT, S. Meat color and flavor. In: BARBUT, S. **Poultry products processing: an industry guide**. New York: CRC, 2002. cap.13, p. 429-463.

BATISTA, P. S. Tempos de recuperação da avicultura brasileira. **Anualpec**, 2001. p. 237-239.

BERAQUET, N. Influência de fatores ante e pos mortem na qualidade da carne de aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 1, n. 2, p. 155-166, 1999.

BIANCHI, M., PETRACCI, M., SIIRRI, F., et al. The influence of the season and market class of broiler chickens on breast meat quality traits. **Poultry Science**, v.86, p.959-963, 2007.

BIOCONTROL. **Assurenace GDS Genetic Detection System**. USA. 2010.

BORGES, S.A.; MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 975-981, 2003.

BRASIL. Normas para Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico das Salmonelas aviárias (S. Enteritidis, S. Gallinarum, S. Pullorum e S. Tyhimurium). Ministério da Agricultura e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº126, de 03 de Novembro de 1995. Plano Nacional de Sanidade Avícola. 1995.

BRESSAN, M. C. **Efeito dos fatores pré e pós-abate sobre a qualidade da carne de peito de frango**. 1998. 201f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 1998.

BRESSAN, M.C.; BERAQUET, N. J. Efeito de fatores pré-abate sobre a qualidade da carne de peito de frango. **Ciências Agrotecnicas**, v.26, n.5, p.1049-1059, 2002.

BROSSI C, CONTRERAS-CASTILLO CJ, AMAZONAS EA, MENTEN JFM. Estresse térmico durante o pré-abate em frangos de corte. **Ciência Rural**, v.39, n.4, 2009.

BYRD, J. A. ; R. C. ANDERSON, T. R. ; CALLAWAY, R. W. ; MOORE, K. D. ; KNAPE, L. F. KUBENA, R. L. ; ZIPRIN, D. J. NISBET. Effect of experimental chlorate product administration in the drinking water on *Salmonella* Typhimurium contamination of broilers. **Poultry Science**, v. 82, n. 9, p.1403–1406, set. 2003.

CAHANER A; PINCHASOV Y; NIR. I et al. Effects of dietary protein under high ambient temperature on body weight, breast meat yield and abdominal fat deposition on broiler stock differing in growth rate and fatness. **Poultry Science**, v.74, p.968-975, 1995.

CAIRES, C. M.; CARVALHO, A. P.; CAIRES, R. M. Nutrição de frangos de corte em clima quente. **Revista eletrônica nutritime**, v.5, n.3, p.577-583, Maio/junho. 2008.

CARRASCO, G.A.; VAN DE KAR, L.D. Neuroendocrine pharmacology of stress. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v.463, p.235-272, 2003.

CASON JA, LYON CE, PAPA CM. Effect of muscle opposition during rigor on development of broiler breast meat tenderness. **Poultry Science**, v. 76, p. 785-787, 1997.

CASTILLO, C.J.C. Qualidade de carcaça e carne de aves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 2001, São Pedro. **Anais...** São Pedro: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2001. p.79-99.

COURRIER, D.E. Mycotoxicosis: mechanisms of immunosuppression. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 30, p. 73-87, 1991.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, Baltimore, v.82, n.1, p.47-95, 2002.

DUCHAMP, C. et al. Histochemical arguments for muscular non-shivering thermogenesis in Muscovy ducklings. **Journal Physiologic**, Cambridge, v. 457, p. 27-45, 1992.

EFSA - European Food Safety Authority. The Community Summary Report On Trends And Sources Of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance And Foodborne Outbreaks In The European Union In 2006.

FISCHER, P.C; BROSSI, C; GOLINELI, B.B; CONTRERAS-CASTILLO, C.. Qualidade de peito de frango submetido a estresse térmico agudo. In: 13º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 2005, Piracicaba. **Anais Eletrônicos...** Piracicaba, USP, 2005. Disponível em: <<http://www.usp.br/siicusp/Resumos/14Siicusp/2996.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2011.

FLETCHER, D. L. Ante mortem factors related to meat quality. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON THE QUALITY OF POULTRY MEAT, 10th, Doorwerth, 1991. **Proceedings...** Beekbergen: Spelderholt Centre for Poultry Research and Information Services, 1991. p.11- 9.

FLETCHER, D.L. Poultry meat quality. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v.58, n.2, p.131-145, 2002.

FRONING, G. W.; BABJI, A. S.; MATHER, F. B. The effect of preslaughter temperature, stress, struggle and anesthetization on colour and textural characteristics of turkey muscle. **Poultry Science**, v.57, n.3, p.630-3, 1978.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. A review. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, n.5, p.365-378, 1989.

FURLAN, R.L. AND MACARI, M. Termorregulação. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. FUNEP/UNESP. Jaboticabal, 2002. p. 209-230.

GAST, R.K. *Salmonella* infections. In: SAIF, Y. M. Diseases of Poultry. 11. ed. Ames: **Iowa State Press**, 2003. p. 567-583.

HALL, S.T.; YOUSEF, A.E. Tests for groups of microorganisms. In: WEHR, H.M. & FRANK, J.F. **Standard Methods for Examination of Dairy Products**, 17th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 2004. cap 8.071, p. 234-247.

HAMM R. Biochemistry of meat hydration. In: **Advances in Food Research**, Cleveland, 1960. p. 335-443, v. 10.

HECKERT, R.A.; ESTEVEZ, I.; RUSSEK-COHEN, E.; PETTIT-RILEY, R. Effects of density and perch availability on the immune status of broilers. **Poultry Science**, v. 81, p. 451-457, 2002.

HOLM, C.G. P.; FLETCHER, D. L. Ante mortem holding temperatures and broiler breast meat quality. **Food Technology**, v. 37, n. 4, p. 117-119, 1997.

HONIKEL, K.O.; FISHER, C. A rapid method for detection of PSE and DFD porcine muscles. **Journal Food Science**. Chicago, v. 42, p. 1633-1636, 1977.

HUNT, M.E. & RICE, E.W. Microbiological examination. In: EATON et al. **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater, 21st Ed**. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF). Washington, 2005. p.949-958.

KORNACKI, J.L. & JOHNSON, J.L. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: K. ITO (ed), **Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods, 4th ed**. Public Health Association, Washington, 2001. cap. 8, p.69-82.

LAGANA, C. **Otimização da produção de frangos de corte em estresse por calor**. 2005. 180f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

LAVOR, C.T.B.; FERNANDES, A.A.O.; SOUSA, F.M. Efeito de materiais isolantes térmicos em aviários no desempenho de frango de corte. **Ciência Rural**. Fortaleza, v. 39, n. 2, p. 308-316, Abr/jun. 2008.

LEE, Y.B.; HARGUS, G.L.; HAGBER, E. Effect of ante mortem environmental temperatures on postmortem glycolysis and tenderness in excised broiler breast muscle. **Journal of Food Science**, 1976.

LIN, H. et al. Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part A, Oxford, 2006. 7 p. 144 v.

MAHMOUD, K.Z.; EDENS, F.W. Influence of selenium sources on age related and mild heat stress-related changes of blood and liver glutathione redox cycle in

broiler chickens (*Gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology** - Part B: Biochemistry & Molecular Biology, Vancouver, v.136, n.4, p.921-934, 2003.

MARCHI, D.F.; OBA, A.; SOARES, A.L.; SANTOS, G.R.; SHIMOKOMAKI, M. Avaliação do halotano como agente estressor em frangos. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 2, p. 405-412, 2010.

MARTINDALE, R.G. Contemporary strategies for the prevention of stress-related mucosal bleeding. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 62, p. 511-517, 2005.

McKEE, S.R.; SAMS, A.R. The effect of seasonal heat stress on rigor development and the incidence of pale, exudative turkey meat. **Poultry Science**, v.76, p.1616-1620, 1997.

MILLER, L.; QURESHI, M.A. Introduction of heat shock proteins and phagocytic function of chicken macrophage following in vitro heat exposure. **Veterinary, Immunology and Immunopathology**, v.37, n.1, p. 34-42, 1991.

MITCHELL, M.A. Anormalidades musculares: mecanismos fisiopatológicos. In: RICHARDSON, R.I.; MEAD, G.C. **Ciência de La Carne de Ave**. [S.l.:s.n], 2001, p. 497.

MOBERG, G.P. Biological Response to Stress: implications for animal welfare. In: MOBERG, G.P.; MENCH, J.A. (Eds). **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare**, CABI Publishers, 2000, p. 1-22.

NAVARINI, F.C. **Níveis de Proteína Bruta e Balanço Eletrolítico para Frangos de Corte**. 2009. 68 f. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2009.

NIENABER, J. A. et al. Heat Stress Climatic Conditions and physiological Responses of Cattle. In: **INTERNATIONAL DAIRY HOUSING CONFERENCE**, 5, 2003, **Proceedings ...** Fort Worth. 2003.

NORTHCUTT, J.K.; FOEGEDING, E. A.; EDENS, F.W. Water-holding properties of thermally preconditioned chicken breast and leg meat. **Poultry Science**. Ithaca, v.73, p. 308-316, 1994.

OBA, A.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; LEONEL, F.R.; PELICANO, E.R.L.; ZEOULA, N.M.B.; BOLELLI, I.C.; Qualidade da carne de frangos de corte submetidos a dietas suplementadas com cromo, criados em diferentes temperaturas ambientais. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. Maringá, v. 29, n. 2, p. 143-149, 2007.

PIKUL, J., LESZCZYNSKI, D.E., KUMMEROW, F. A. **Evaluation of tree modified TBA methods**. 1989.

QIAO, M.; FLETCHER, D. L.; SMITH, D. P.; NORTHCUTT, J. K. The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. **Poultry Science**, v. 80, n. 5, p. 676-680, 2001.

QUINTEIRO-FILHO, W.M., et al., Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens. **Poultry Science**, p. 1905-1914, 2010.

RABELLO, C.B.V. Produção de aves em clima quente. In: ZOOTEC, 2008, João Pessoa. **Anais ...** Paraíba: Associação Brasileira de Zootecnia, maio 2008. p. 1 - 11.

ROÇA, R.O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, 2002. 202p.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2005. 141p.

SALAK-JOHNSON, J.L.; McGLONE, J.J. Making sense of apparently conflicting data: Stress and immunity in swine and cattle. **Journal Animal Science**, v. 85, n. 13, p. 81-88, 2007.

SANDERCOCK, D.A. et al. Acute heat stress-induced alterations in blood acid-base status and skeletal muscle membrane integrity in broiler chickens at two ages: Implications for meat quality. **Poultry Science**, Ithaca, v.80, p.418-425, 2001.

SANTIN, E. Modulando o sistema imune das aves para incrementar produtividade. 2009. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/saude/artigos/modulando-sistema-imune-aves-t212/165-p0.htm>>. Acesso em: 24 abr. 2012.

SAS Institute. **SAS user's guide: statistics**. Release 9.1. Cary. 2002.

SCARCELLI, E.; GENOVEZ, M.E.; CARDOSO, M.V.; SOUZA, M.C.A.M.; GRASSO, L.M.P.S.; SOUZA, C.A.I.; TORRES, A.P. Avaliação do potencial de disseminação de *Campylobacter* spp por diferentes espécies animais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.65, n.1, p.55-61. 1998.

SIFRI, M. Informal nutrition symposium: dynamics of the digestive system – Introduction. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 15, p. 122, 2006.

SOUSA JÚNIOR, F. N. **Bicarbonato de sódio associado ao cloreto de amônio em rações para frangos de corte sob condições naturais de estresse calórico**. 2006. 101 f. Tese (Mestrado em ciência animal, área de concentração: nutrição e produção animal de interesse econômico) – Universidade Federal do Piauí, 2006.

SOUZA V.L.F., BURANELO G.S., GASPARINO E., CARDOZO R.M., BARBOSA M.J. Efeito da automatização nas diferentes estações do ano sobre os parâmetros de desempenho, rendimento e qualidade da carne de frangos de corte. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 5, p. 1023-1035, 2010.

TANKSON, J.D. et al. Stress and nutritional quality of broilers. **Poultry Science**, Ithaca, v.80, n.9, p.1384-1389, 2001.

THAXTON, J. P.; SIEGEL, H.S. Immunodepression in young chickens by high environmental temperature. **Poultry Science**, Champaign, v.42, n.1, p.202-205, 1982.

VERCELLOTTI, J.R. et al. Lipid oxidation in foods: An overview. In: **St. ANGELO. Lipid oxidation in food**. Washington: American Chemical Society, 1992. p.1-11.

WARRISS, P.D.; KESTIN, S.C.; BROWN, S.N. the depletion of glycogen stores and levels of dehydration in transported broiler. **British Veterinary Journal**., v.149, n.4, p.391-8, 1993.

WHEELER TL, CUNDIFF LV, KOCH RM. Characterization of biological types of cattle (Cycle IV): carcass traits and longissimus palatability. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 5, p. 1023-1035, 1996.

WOELFEL, R.L. et al. The characterization and incidence of pale, soft, and exudative broiler meat in a commercial processing plant. **Poultry Science**, Ithaca, v.81, p.579-584, 2002.