

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CAROTENÓIDES NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS

Acadêmica: Patrícia Gomes Santana

Aquidauana-MS

Março/2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CAROTENÓIDES NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS

Acadêmica: Patrícia Gomes Santana

Orientadora: Dr^a. Elis Regina de Moraes Garcia

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia”.

Aquidauana-MS

Março/2019

“E Maria disse: Minha alma glorifica ao Senhor,
meu espírito exulta de alegria em Deus, meu Salvador, porque olhou para sua
pobre serva. Por isto, desde agora, me proclamam bem-aventurada todas as
gerações, porque realizou em mim maravilhas aquele que é poderoso e cujo
nome é Santo.

Sua misericórdia se estende, de geração em geração, sobre os que o temem.
Manifestou o poder do seu braço: desconcertou os corações dos soberbos.

Derrubou do trono os poderosos e exaltou os humildes.

Saciou de bens os indigentes e despediu de mãos vazias os ricos. Acolheu a
Israel, seu servo, lembrado da sua misericórdia,
conforme prometera a nossos pais, em favor de Abraão e sua posteridade,
para sempre.”

(Lucas 1, 46-55.)

Aos meus pais, **João Batista Santana e Shirley Gomes Santana**, por sonharem comigo desde 1995.

Às minhas fiéis e amadas irmãs, **Simone e Ana Santana**, por dividirem a vida, a família, os pais, e principalmente acreditarem em mim muito mais do que eu mesma.

À **Maria Santíssima**, por ser Dona de tudo que fui, sou e serei. À Ela, tudo que tive, tenho e terei.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proporcionar o dom da vida e me fazer forte a cada dia, durante este ciclo. Por me dar serenidade, sabedoria e principalmente me mostrar que somente Ele basta.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – Unidade Universitária de Aquidauana pela oportunidade da realização do curso de Pós graduação em Zootecnia e concessão da bolsa, permitindo assim que este estudo fosse desenvolvido.

À Prof^a Dr^a Elis Regina de Moraes Garcia pela orientação, paciência, empatia, ensinamentos, incentivo, palavra certa, na hora certa. Por ter me transformado em um ser humano melhor e mais organizado, por não ter medido esforços para me demonstrar diariamente que tudo daria certo, no tempo certo e conforme os planos de Deus quisessem. Por cada palavra que me inspirou a amar ainda mais a aviculture e a pesquisa. Mil vezes meu muito obrigada por todas as vezes que me ajudou a buscar voos mais altos.

À empresa Vet Science® pelo fornecimento dos aditivos utilizados durante este experimento.

Ao Prof^o Dr^o André Luiz Julien Ferraz pela disponibilidade da utilização do Laboratório de Biologia Molecular, bem como da utilização dos equipamentos. Principalmente pela paciência, esforços e infinitos ensinamentos para a melhor realização possível das análises. Ao Prof^o Dr^o Tiago Junior Pasquetti, por todas as correções na banca de qualificação e pelo aceite em participar da banca de defesa, seus ensinamentos foram de grande valia para este trabalho e para vida. Ao Prof^o Dr^o Charles Kiefer, por aceitar participar da banca de defesa, se deslocando de Campo Grande-MS, para agregar ainda mais a esta pesquisa.

Aos meus amados irmãos do grupo GENAVE, que me proporcionaram um ambiente de trabalho agradável, por me darem forças para não desistir e encherem meu coração com ensinamentos e histórias de vida: Danilo Sanches, Ademir Oliveira, Eliane Correa, Gabrielli Costa, Bruna Rocha, Camila Souza, Renata Pucheta. À minha amiga Gislaine Andrade por dividir infinitos dias, situações, puxões de orelha, casa, famílias e caronas, sem você a jornada seria

muito mais difícil. À minha amiga Natalia Chaves por tantos ensinamentos, paciência e auxílios, por dividir histórias e compartilhar conhecimento.

A todos os funcionários desta instituição, em especial: Edson, Jorge, Sr. Fermiano, Carmelita, Sr. Godofredo, a todos os vigias e funcionárias da limpeza, sem apoio e dedicação de vocês nada disso seria possível.

À minha fiel companheira de casa, Thiara Tezolin, por dividir dias coloridos e nublados, por ter sido minha família durante tantos momentos de saudade de casa, pelas infinitas vezes em que me ajudou no experimento e disse que daria tudo certo. Pelas infinitas vezes que nossas partilhas diárias me fizeram mais humana. Obrigada principalmente por ter me ensinado através da simplicidade que carrega no coração e por ter tido paciência para dividir a vida diariamente e ter me aceitado como sou.

À minha amiga Janaina Gheller, por dividir histórias, compartilhar de praticamente todos os momentos vividos durante esses 24 meses de mestrado. Gratidão por ter sido suporte, força, apoio e principalmente por ter me aguentado nos piores e melhores momentos deste mestrado, levarei cada um dos ensinamentos que me deste e estarei sempre aqui à disposição para ouvir e ajudar. Muito obrigada.

Às minhas amigas, Fabiana Camara e Fabiane Oliveira, por terem se mostrado solícitas e me ajudado, não ganhando nada em troca. Para sempre serei grata por Deus ter me presenteado com vocês em minha vida. Obrigada pela força diária, por me entenderem nos dias de ausência, por se preocuparem com minha saúde e sempre rezarem para que esse sonho se concretizasse. Obrigada principalmente por ter vibrado cada uma das minhas vitórias neste período.

Aos meus amigos de Campo Grande, Daniel Bechi, Rita de Cassia, Gabriele Nantes, Nicolle Barbeto, Vitoria Orro, Victória Ferrari, Larissa Oliveira, Thais Rios, Bruna Assad, Felipe Castello, Thiago Mandetta, Luiz Rocha, Caio Rosa, Camila Tamaoki, Lidiane Rivarola, Thainara Batista por entenderem minha ausência e sempre se preocuparem comigo. Por estarem sempre em torcida e oração para que tudo ocorresse bem.

Aos meus companheiros e estagiários nas horas vagas, Felipe Bahmad, Pablo Rozo, João Humberto, Silverton, Luana Arruda, Louise Azambuja, Kenia

Kemilly, Gabriel Borges e todos que desprenderam de seu precioso tempo, para ajudar e contribuir na realização deste trabalho. Meu muito obrigada ainda é pouco. Ao meu amigo Fernando Araujo, por ter sido peça fundamental nesta reta final, meu muito obrigada pela irmandade contruida em tão pouco tempo. A minha amiga Daniela Alves por ter me apoiado desde a seleção do mestrado, me ajudando com estadia, palavra e ombro amigos, além de divivir partilhas que me fizeram mais humana e forte em todas as dificuldades. A minha amiga Julia Dias, por tantos ensinamentos e partilhas no tempo em que moramos juntas, obrigada por me ajudar a amadurecer.

Aos confrades da casa paroquial, missionários redentoristas Padre Sérgio Lima, Padre Thiago Machado (*in memorian*), e Padre Rodrigo de Castro, por serem a verdadeira face de Jesus na minha vida aquidauanense, por me apoiarem e me ouvirem, por serem migos e muitas vezes pais, eu amo vocês.

Às minhas sempre melhores amigas da vida, Camila Guimarães e Fernanda Souza, por mesmo na distância se fazerem perto, por mesmo na ausência estarem presentes, por serem amigas, ombro, colo e coração para fazer morada.

Aos meus pais, João Batista e Shirley Santana, por serem amparo, consolo, ponto de partida e de chegada, por me ensinarem tudo que sou, por terem me apoiado todos os dias durante este período, obrigada por sempre sonharem os meus sonhos. Às minhas irmãs Simone Santana, Ana Santana e Ariadne Rezende. Por terem entendido meus sumiços por conta das análises, por mesmo na distância viverem diariamente comigo este sonho. Por acreditarem neste sonho, muito mais do que eu mesma. Para sempre eu e vocês. Não poderia esquecer meus Padrinhos Olzemir e Sueli por tanto apoio e incentivo, bem como também ao meu tio João, minha tia Tereza e meu primo João Felipe.

Às minha amadas galinhas, minhas filhas das gaiolas 1 a 40, meu muito obrigada por terem sido peça fundamental para esta pesquisa e por muitas vezes terem sido minhas companhias diárias.

A todos que contribuíram, sonharam, torceram e rezaram para que este trabalho e sonho se realizassem.

De todo coração, muito obrigada.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Etapas da Rancidez Oxidativa	4
Figura 2. Estrutura molecular do Licopeno	11
Figura 3. Estrutura molecular da Astaxantina livre	13
Figura 4. Estrutura molecular da Zeaxantina e da Luteína	15

LISTA DE TABELAS

CAPITULO II	Página
Tabela 1. Composições percentual e calculada das rações experimentais	32
Tabela 2. Consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) (kg/kg, kg/dz), porcentagem de postura (PP) e massa dos ovos (MO) de poedeiras brancas alimentadas com diferentes carotenoides	35
Tabela 3. Peso do ovo (PO), unidade Haugh (UH), índice de gema (IG), coloração de gema crua de ovos (CGC) de poedeiras brancas alimentadas com diferentes carotenóides	36
Tabela 4. Porcentagens de casca, albumen e gema, gravidade específica (GE) e espessura de casca (EC) de ovos provenientes de poedeiras brancas alimentadas com diferentes carotenoides	38
Tabela 5. Concentração de malonaldeído (MDA), peso do ovo (PO), unidade Haugh (UH), índice de gema (IG), pH do albumen e gema, coloração de gema crua (CRC), de ovos armazenados por diferentes períodos de armazenamento (PA) em temperatura ambiente, provenientes de poedeiras brancas alimentadas com diferentes fontes de carotenoides	40
Tabela 6. Concentração de malonaldeído (MDA), peso do ovo (PO), unidade Haugh (UH), pH do albumen e gema, coloração de gema crua (CRC) de ovos armazenados por diferentes períodos de armazenamento (PA) em temperatura refrigerada, provenientes de poedeiras brancas alimentadas com diferentes fontes de carotenoides	44
Tabela 7. Índice de gema (IG) de ovos de poedeiras brancas alimentadas com diferentes fontes de carotenoides armazenados por até 30 dias em temperatura refrigerada	48

LISTA DE ABREVIATURAS

AST	Astaxantina
BHA	butil-hidroxi-anisol
BHT	butil-hidroxitolueno
EC	Espessura de casca
g	grama
IG	Índice de gema
kg	quilograma
LIC	Licopeno
LUT	Luteína
MDA	Malonaldeído
mg	miligrama
mm	milimetro
PA	Porcentagem de albumen
PC	Porcentagem de casca
PG	Porcentagem de gema
PO	Peso do ovo
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TBHQ	t-butil-hidroxiquinona
UH	Unidade Haugh

SUMÁRIO

RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Oxidação Lipídica	3
2.1.1. Oxidação lipídica em ovos e nos tecidos animais	5
2.2 Antioxidantes naturais e artificiais	6
2.2.1 Carotenóides	8
2.3 Absorção e metabolismo de carotenoides	16
2.4 Sinergismo entre carotenoides	18
3. Objetivos	19
3.1. Objetivo Geral	19
3.2. Objetivos Específicos	19
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
CAPITULO II	28
DESEMPENHO, QUALIDADE E ESTABILIDADE OXIDATIVA DE OVOS DE POEDEIRAS BRANCAS ALIMENTADAS COM CAROTENOIDES	28
RESUMO:	28
ABSTRACT:	29
Introdução	29
Material e Métodos	31
Resultados e Discussão	34
Conclusão	49
Considerações Finais	49
Referências bibliográficas	49
ANEXO	56

RESUMO

Com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de carotenoides nas rações sobre o desempenho, qualidade e estabilidade oxidativa dos ovos de poedeiras brancas, armazenados por até 30 dias em temperatura ambiente e sob refrigeração, 240 poedeiras Dekalb White com 76 semanas de idade foram distribuídas em um DIC com oito tratamentos, cinco repetições e seis aves por unidade experimental. Os tratamentos foram dispostos da seguinte forma: ração controle (RC - sem adição de carotenoides), RC com adição de astaxantina (AST) (10 mg.kg^{-1}), RC com adição de luteína (LUT) (10 mg.kg^{-1}), RC com adição de licopeno (LIC) (10 mg.kg^{-1}), RC com adição de astaxantina e luteína (AST + LUT), RC com adição de astaxantina e licopeno (AST + LIC), RC com adição de luteína e licopeno (LUT + LIC), e RC com adição de astaxantina, luteína e licopeno (AST + LUT + LIC). As variáveis analisadas foram consumo de ração (CR), conversão alimentar (kg/kg e kg/dz) (CA), porcentagem de postura (PP), massa dos ovos (MOV), peso médio dos ovos (PO), unidade Haugh (UH), índice de gema (IG), gravidade específica (GE), pH do albúmen (pHa) e da gema (pHg), porcentagem e espessura de casca (EC), coloração de gema crua (CGC), porcentagem de albúmen (%ALB) e gema (%GEM). Para avaliação da qualidade e da estabilidade lipídica foram analisados 20 ovos por tratamento armazenados em temperatura ambiente (TA) e refrigerada (TR). Os ovos foram analisados frescos, aos 15 e 30 dias, analisando-se malonaldeído (MDA), peso do ovo (PO), unidade Haugh (UH), índice de gema (IG), pH do albúmen (pHa) e gema (pHg) e coloração de gema (CGC). Adotou-se um DIC em esquema fatorial 8×3 (tratamentos $\times$ períodos de armazenamento). Para as características de desempenho e qualidade dos ovos não foi observada diferenças significativas entre os tratamentos. No entanto, as gemas dos ovos produzidos pelas aves que receberam astaxantina e licopeno das dietas apresentaram-se mais pigmentadas ($p < 0,05$). Os dados relacionados aos diferentes períodos de armazenamento e ambientes demonstraram diferenças significativas para a concentração de MDA. Os menores valores foram para as RC e a RC com adição de astaxantina. Para a CGC verificou-se que a RC com a adição de AST + LUT, AST + LIC, LUT + LIC proporcionaram maior pigmentação. As estocagens dos

ovos, tanto em temperatura ambiente quanto em temperatura refrigerada, foram observadas diferenças entre concentração de malonaldeído (MDA), para os diferentes tratamentos, sendo que as RC com adição de AST e RC obtiveram os menores valores. Porém quanto ao período de armazenamento, as concentrações de MDA foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) somente para os ovos armazenados em temperatura ambiente, os valores foram aumentados conforme aumentou-se o período de armazenamento. As colorações das gemas dos ovos foram diferentes significativamente ($p>0,05$) tanto para ovos armazenados em temperatura ambiente (TA), como em temperatura refrigerada (TR), as gemas que demonstraram maior valores de pigmentação foram das gemas das RC com adição de AST + LUT, AST + LIC e LUT + LIC, os valores de menor pigmentação corresponderam a RC com adição de AST + LUT + LIC. Em relação a característica de índice de gema (IG), foi observada interação significativa entre os tratamentos e o período de armazenamento, onde a RC, a RC com adição de AST + LUT e AST + LUT, apresentaram valores consideravelmente mais estabilizados em relação a diminuição do IG. Conclui-se que a inclusão de 10 mg.kg⁻¹ de astaxantina, 10 mg.kg⁻¹ de luteína e 10 mg.kg⁻¹ de licopeno, combinados ou não, em rações comerciais brancas não influencia o desempenho zootécnico e qualidade dos ovos. Os dados de oxidação lipídica (MDA) indicam que os ovos tem melhor estabilidade oxidativa quando as poedeiras são alimentadas com rações baseadas em milho e farelo de soja suplementadas com astaxantina (10 mg.kg⁻¹, em comparação à adição do licopeno (10 mg.kg⁻¹). A associação de AST e LUT, AST e LIC e LUT e LIC nas rações de poedeiras proporciona a produção de ovos com gemas mais pigmentadas, no entanto, a combinação da AST, LUT e LIC desencadeia menor capacidade pigmentante. O armazenamento dos ovos por até 30 dias, tanto em temperatura ambiente como sob refrigeração, prejudica a qualidade interna dos ovos de poedeiras comerciais brancas.

Palavras- chave: antioxidante natural, armazenamento, astaxantina, luteína, licopeno, nutrição.

ABSTRACT

In order to evaluate the effects of carotenoid inclusion on rations on performance, quality and oxidative stability of eggs of white laying hens stored for up to 30 days at room temperature and under refrigeration, 240 76 week old Dekalb White hens were distributed in a CRD with 8 treatments, 5 replicates and 6 birds per experimental unit. The treatments were as follows: control ration (CD - without addition of carotenoids), CD with addition of astaxanthin (AST) (10 mg.kg⁻¹), CD with lutein addition (LUT) (10 mg.kg⁻¹), CD with addition of astaxanthin and lutein (AST + LUT), CD with addition of astaxanthin and lycopene (AST + LIC), CD with addition of lycopene (LIC) (10 mg.kg⁻¹), CD with addition of astaxanthin and lycopene (AST + LIC), CD with addition of lutein and lycopene (LUT + LIC), and CD with addition of astaxanthin, lutein and lycopene (AST + LUT + LIC). The variables analyzed were feed intake, feed conversion (kg / kg and kg / dz) (CA), percentage of laying (PP), egg mass (EM), mean egg weight EW), Haugh unit, yolk index, specific gravity (SG), albumen pH (pHa) and yolk (pHg), percentage and shell thickness (EC), yolk color (YC) of albumen (% ALB) and yolk (% GEM). To evaluate the quality and lipid stability, 20 eggs per treatment were analyzed at room temperature (RT) and refrigerated (TR). The eggs were analyzed fresh at 15 and 30 days, analyzing malonaldehyde (MDA), egg weight (PO), Haugh unit (UH), yolk index (GA), albumen pH (pHa) and yolk (pHg) and yolk color. A CRD was adopted in factorial scheme 8x3 (treatments x storage periods). No significant differences were observed between treatments. However, egg yolks produced by birds receiving astaxanthin and lycopene from the diets were more pigmented ($p > 0,05$). The aspects related to the different storage periods and environments showed significant differences for the MDA concentration. The lowest values were for CR and CR with addition of astaxanthin. For CGC, it was found that CR with the addition of AST + LUT, AST + LIC, LUT + LIC provided higher pigmentation. Egg storage, both at room temperature and in refrigerated temperature, showed significant differences in the concentration of malonaldehyde (MDA) for the different treatments, and the CD with addition of AST and CD had the lowest values. However for the storage period, MDA concentrations were observed significant differences ($p < 0,05$) only

for eggs stored at room temperature, the values were increased as the storage period was increased. The egg yolk colorations were significantly different ($p < 0,05$) for both eggs stored at room temperature (TA) and in refrigerated temperature (TR), the eggs that showed higher values of pigmentation were from the buds of the CR with addition of AST + LUT, AST + LIC and, the lowest pigment values corresponded to CD with addition of AST + LUT + LIC. In relation to the yolk index (IG) characteristic, a significant interaction was observed between the treatments and the storage period, where the CD, the CD with addition of AST + LUT and AST + LUT, presented values that were considerably stabilized in relation to decrease in the IG. It is concluded that the inclusion of astaxanthin (10 mg.kg⁻¹), lutein 10 mg.kg⁻¹ and lycopene 10 mg.kg⁻¹, combined or not, in white commercial egg-laying rations does not influence zootechnical performance and quality of eggs. Lipid oxidation data (MDA) indicate that the eggs have better oxidative stability when the layers are fed with rations based on corn and soybean meal supplemented with astaxanthin (mg.kg⁻¹ 10, compared to the addition of lycopene (10 -1 mg.kg). The association of AST and AST, LUT, LIC and LUT and LIC in feed of layers provides the production of eggs with yolks more pigmented, however, the combination of AST, LUT and LIC triggers lower capacity pigmentante. The storage of eggs for up to 30 days, both at room temperature as under refrigeration, undermines the internal quality of eggs of layers white commercial.

Key words: astaxanthin, lutein, lycopene, natural antioxidante, nutrition.

1. INTRODUÇÃO

Com um plantel composto por aproximadamente 160 milhões de aves (IBGE, 2018) e produção anual de 39,9 milhões de ovos, o Brasil está entre os dez maiores produtores mundiais de ovos. Cerca de 99,7% da produção brasileira está voltada para o mercado interno, com consumo de 192 ovos *per capita* por ano em 2017 (ABPA, 2018).

O ovo é considerado um alimento nutricionalmente completo, e possui quantidade significativa de nutrientes. Para os consumidores, a qualidade dos ovos relaciona-se com o prazo de validade do produto e com as características sensoriais, como cor de gema e da casca (BISCARO & CANNIATTI BRAZACA, 2006).

A qualidade dos ovos é influenciada por diversos fatores, tais como, a alimentação, idade e estado sanitário das aves, instalações do aviário, temperatura de transporte, tempo de armazenamento, cuidados no momento do transporte dos ovos (SOUZA-SOARES & SIEWERDT, 2005).

O estresse oxidativo é responsável pela perda de qualidade dos ovos e também resultam em produtos de oxidação que estão associados a efeitos diversos à saúde dos animais e dos seres humanos. Portanto, a atividade antioxidante de determinados compostos é de grande interesse da indústria alimentícia, uma vez que é possível aumentar o prazo de validade dos ovos e também a aceitação do consumidor no momento da compra.

Os antioxidantes sintéticos como butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA) e o terc-butilhidroquinona (TBHQ) são bastante empregados como aditivos alimentares (RAMALHO; JORGE, 2006; BRASIL, 1988). Porém estudos realizados em animais, demonstraram que a exposição prolongada a estes compostos levou ao desenvolvimento de tumores de fígado, pâncreas e demais glândulas. Levando à alterações nas funções hepáticas, adenomas e carcinomas (JARDINI; FILHO, 2007).

Dessa forma, a utilização dos antioxidantes sintéticos em alimentos é limitada; estando proibida a adição de TBHQ em alimentos no Canadá, bem como, na Comunidade Econômica Européia (RAMALHO; JORGE, 2006), além de a Food and Agriculture Organization (FAO) e a World Health Organization (WHO), constantemente alterarem, nos últimos anos, a ingestão diária aceitável

(IDA) destas substâncias (SOARES, 2002). No Brasil, o uso destes antioxidantes em alimentos é regulamentado pela Resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988, que lista os limites máximos permitidos para a utilização de antioxidantes sintéticos em diversas classes de alimentos (BRASIL, 1988).

Embora uma quantidade relevante de pesquisas, testando antioxidantes sintéticos tenham demonstrado sua eficácia, a associação dos mesmos, com efeitos citotóxicos, neurotóxicos e mutagênicos, levantam a vertente em relação aos prejuízos acarretados à saúde dos seres humanos. Desta forma, há uma demanda para que estes produtos sintéticos sejam totalmente substituídos por compostos naturais (FERNANDES et al., 2018).

Neste sentido, vários compostos bioativos provenientes da natureza, desde plantas, vegetais, algas marinhas são antioxidantes em potencial e estão positivamente para a saúde da população de forma geral. A utilização de compostos que contenham as estruturas químicas com dois ou mais anéis aromáticos, a presença de triptofano, tirosina, preteínas presentes no ovo, peptídeos derivados, fosfolipídios, vitamina E, carotenoides, flavonoides contribuem diretamente para a atividade antioxidante da gema de ovo (MOHITI et. al., 2010; WU, 2011).

Portanto, dentre os aditivos estudados, estão os carotenoides, pois além de apresentarem funções antioxidantes, são pigmentantes e imunomoduladoras (WILLIAMS et al., 1998). Os carotenoides, que são pigmentantes naturais, devem ser ingeridos pelas aves, por meio das dietas, pois as aves não sintetizam estes compostos, com isso, a concentração destes aditivos na dieta está diretamente relacionada a sua concentração nos tecidos e a pigmentação das gemas.

A zeaxantina, luteína, astaxantina, licopeno e o β -caroteno são carotenoides que apresentam fórmula estrutural e funções bioquímicas semelhantes. Estes compostos fazem parte de pigmentos estruturais importantes e apresentam participação em funções vitais tanto no homem como nos animais (FRANCESCH et al., 1997).

Dessa forma, a procura por aditivos que melhorem a qualidade interna, externa e a estabilidade oxidativa dos ovos é fundamental para o melhor desenvolvimento do setor avícola.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Oxidação Lipídica

O processo de reações deteriorativas que ocorre durante o processamento, distribuição, armazenamento e preparo final dos alimentos recebe o nome de oxidação lipídica (SOARES, 2002), uma vez que, por meio das fontes externas de energia, bem como a luz, temperatura e radiação, ocorre a formação de radicais livres nos alimentos (SILVA et al., 2010).

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, ocasionado principalmente pelo processo de peroxidação lipídica, processo este em que ocorre a deterioração dos ácidos graxos, os quais sofrem uma série de transformações no processo de armazenamento. A principal consequência dessas alterações são a modificação do flavor original e o aparecimento de odores e rancidez. Isto leva a desvalorização do produto para a indústria e rejeição por parte dos consumidores (SILVA: BORGES & FERREIRA, 1999).

O processo de rancidez oxidativa é dividido em três fases, a iniciação, propagação e terminação. Na fase de iniciação é preciso que oxigênio esteja ativado, para que ocorra o ataque do oxigênio molecular às duplas ligações dos ácidos graxos que compõem um lipídio. Nesta fase ocorre um desarranjo eletrônico, que transforma a molécula de oxigênio em um radical livre de alta reatividade química, isto se deve ao fato da estrutura eletrônica do oxigênio permitir que o mesmo doe e receba elétrons (BUTOLO, 2001).

Na fase de propagação, os radicais livres (superóxidos e hidróxidos) são ainda mais reativos, podendo assim atacar a estrutura do ácido graxo insaturado, levando à formação de outros radicais livres. Estes podem atacar o oxigênio atmosférico e, com a adição do oxigênio no ácido graxo, gerar diferentes produtos intermediários, por exemplo, os peróxidos (RUTZ, 1994).

Na fase de teminação, os radicais livres passam a reagir entre si, dando origem a produtos que não exalam odores desagradáveis. Porém, os radicais livres podem se dividir, gerando produtos potencialmente tóxicos como os aldeídos, cetonas, peróxidos e hidroperóxidos. Além de formarem hidrocarbonetos, que por sua vez, geram o típico odor ou sabor de ranço (BUTOLO, 2001).

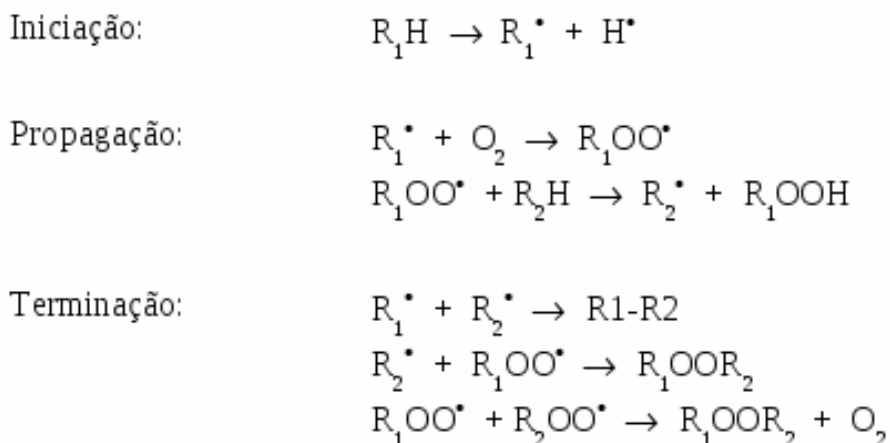


Figura 1- Etapas da rancidez oxidativa

No entanto, quanto mais insaturado for o lipídio maior será sua susceptibilidade a rancidez, e mais rapidamente se dará este processo. Isto explica o fato pelo qual os óleos são mais propícios a desenvolverem a rancidez oxidativa do que as gorduras (BUTOLO, 2001).

Portanto, o consumo de alimento oxidado representa risco à saúde dos animais, não somente porque este fato ocasiona a destruição de certos nutrientes, como os ácidos graxo essenciais, proteínas (principalmente as lipoproteínas), vitaminas lipossolúveis e carotenoides (LEESON & SUMMERS, 2001), bem como pela formação de compostos que apresentam efeitos tóxicos ao organismo (WANG et al., 1997; RACANICCI et al., 2004).

No processo de oxidação dos alimentos são formadas substâncias químicas tóxicas, tais como o malonaldeído (MDA) e os óxidos de colesterol. O malonaldeído é um dialdeído que possui três carbonos e contém grupos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3, estes compostos são produzidos por meio da degradação oxidativa em duas etapas de ácidos graxos, estas estruturas apresentam duas ou mais ligações duplas, demonstrando que a quantidade de MDA varia conforme a composição de ácidos graxos. A detecção desse composto se dá por meio do ácido tiobarbitúrico (TBA), que reage com o MDA e forma um composto de cor vermelha (TBA-MDA), medido através de espectrofotometria a 532 nm de comprimento da onda (FERNANDES, 2016).

As espécies reativas de oxigênio também conhecidas por EROs, como o ânion radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxil (OH) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são degradadas e formadas por organismos aeróbicos, sendo esta

formação conduzida a concentrações fisiológicas, utilizadas para função celular normal, porém, caso estejam em excesso aumentando o estresse oxidativo (NORDBERG & ARNÉR, 2001).

A integridade de várias biomoléculas vem sendo ameaçada pela produção das estruturas químicas intermediárias no metabolismo celular (STALDTMAN & LEVINE, 2000). Portanto, as enzimas antioxidantes exercem efeito protetor às células aeróbicas e demais estruturas corporais dos danos oxidativos causados pelas EROs, que são geradas durante o metabolismo normal (FRIDOVISH, 1978).

2.1.1. Oxidação lipídica em ovos e nos tecidos animais

A gema do ovo é composta de 30 a 34% de gorduras, contendo colesterol (5% do total gorduroso), triglicerídeos (66%), fosfolipídios (28%) e ácidos graxos livres (1%) e as maiores concentrações de ácidos graxos insaturados encontram-se na porção lipídica.

Os ácidos graxos insaturados estão presentes em grandes quantidades nos ovos e por serem menos estáveis aos processo de oxidação lipídica, a sua capacidade de conservação é limitada (PITA et al., 2004). Os ovos *in natura* sofrem oxidação quando são expostos a longos períodos de armazenamento, tanto em condições refrigeradas quanto em temperatura ambiente (PEREIRA, 2009).

Considerando que a oxidação está relacionada a deterioração e degradação dos alimentos, estas reações oxidativas podem ser consideradas a base para inúmeras funções biológicas, incluindo o metabolismo energético (KOHEN & NYSKA, 2002).

A dieta das aves pode alterar a composição de ácidos graxos dos ovos, promovendo assim o enriquecimento nutricional (CARVALHO, 2012). Com isso, Botsoglou et al. (2012) quantificando os produtos primários e secundários oriundos da oxidação lipídica em ovos enriquecidos em ácidos graxos de cadeia longa, perceberam que a inclusão de vitamina E ou folhas de oliveira na alimentação de poedeiras apresenta efeito protetivo nos lipídeos, comprovando assim a importância da suplementação de antioxidantes.

As reações oxidativas ocorrem na cadeia alimentar como um todo, desde o animal vivo, durante o processamento, até a chegada aos consumidores. Neste

processo os constituintes dos alimentos como lipídeos e proteínas são oxidados durante o processamento, armazenamento e a preparação culinária (ESTEVEZ, 2015). A ocorrência do estresse oxidativo nos tecidos causa danos biológicos, funcionais e orgânicos que levarão a problemas de saúde e comprometimento do desempenho das aves (FELLENBERG & SPEISKY, 2006). Portanto, o início da rancidez e sabores estranhos em produtos avícolas foi identificado como uma das principais preocupações da oxidação lipídica (MIN & AHN, 2005).

O estresse oxidativo gerado nos tecidos dos animais é resultado de um desequilíbrio de pró oxidantes e as defesas antioxidantes endógenas, fato que envolve uma superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO) e ocasiona danos em relação aos componentes celulares (CADENAS & DAVIES, 2000; KOHEN & NYSKA, 2002). A principal fonte de espécies reativas de oxigênio encontradas nos tecidos musculares das aves é o desemparelhamento de elétrons da cadeia respiratória das mitocôndrias durante a redução da molécula de oxigênio para molécula de água (MUJAHID et al., 2007).

As principais causas que podem estimular o estresse oxidativo nas aves são o estresse pelo calor, dietas contendo alimentos oxidados e condições patológicas (FELLENBERG E SPEISKY, 2006; ESTEVEZ, 2015). A importância dos carotenoides está diretamente relacionada ao desenvolvimento e funcionamento do sistema imune das aves, de forma que, em situações de ausência de carotenoides, pintinhos sofreram danos no fígado e timo, durante seu desenvolvimento. Em aves adultas, os carotenoides auxiliam a prevenir infecções (KOUTSOS et al., 2013; PAARK, 2004).

2.2 Antioxidantes naturais e artificiais

Os antioxidantes de maneira geral, são “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, retarda ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SHAMI; MOREIRA, 2004). Utilizando este conceito na indústria alimentícia, pode-se dizer que antioxidantes são substâncias que retardam ou previnem significativamente a oxidação de lipídios, principalmente os insaturados ou outras moléculas à iniciação ou propagação da reação de cadeia, evitando assim a formação de

compostos como aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos e álcoois, que são potencialmente tóxicos à saúde humana e animal (PASSOTO et al., 1998).

Os antioxidantes são classificados em primários e secundários, e depende do mecanismo de ação. Os antioxidantes primários interrompem a cadeia de reação por meio da doação de elétrons e hidrogênio de radicais livres, este processo resulta em produtos termodinamicamente estáveis, formando assim o complexo lipídio-antioxidante. São exemplos de antioxidantes primários o BHA (butil-hidroxi-anisol), BHT (butil-hidroxitolueno), TBHQ (t-butil-hidroquinona), tocoferóis e galatos (TAKEMOTO, 2009).

Os antioxidantes secundários retardam a etapa de iniciação da autooxidação, em mecanismos como: sequestrantes, reagindo com o oxigênio livre, removendo este do sistema. Formando assim os quelantes que são complexos que reagem com metais; são considerados antioxidantes quelantes o EDTA (etileno diamino tetracético), ácido cítrico, ácido tartárico e polifosfatos. Como antioxidantes sequestrantes, as substâncias mais utilizadas são ácido ascórbico, ácido eritórbito, sulfitos e palmitato de ascorbila (SHADIHI, 2000).

O sinergismo entre os antioxidantes primários e secundários é vantajoso, pois eleva o efeito do antioxidante e possibilita a redução da quantidade relativa de cada produto em questão, resultando assim em um aumento na eficiência e redução do custo (BUTOLO, 2001).

A utilização de antioxidantes deve atender aos seguintes requisitos como: não conferir odor ou sabor estranho ao produto, ter compatibilidade com o substrato, ser efetivo durante o período armazenamento, ser facilmente incorporado aos alimentos, apresentar estabilidade ao processo de aquecimento (MELO; GUERRA, 2002).

Para atuarem como antioxidantes os compostos não devem somente neutralizar um radical livre, mas também estabilizá-lo de maneira que eles não se tornem propagadores do processo de oxidação (BUTOLO, 2001).

Na atualidade existe uma tendência de substituição de antioxidantes sintéticos por antioxidantes naturais, por conta dos malefícios, como várias alterações hepáticas e formações de células cancerígenas, causados pela exposição de animais a compostos sintéticos (JARDINI; FILHO et al., 2007). Além disso existe a proibição da utilização dos antioxidantes sintéticos, que já

acontece na União Européia e a limitação de uso que ocorre no Brasil (RAMALHO, 2006; BRASIL, 1988).

Os antioxidantes naturais são geralmente moléculas encontradas em plantas, sendo elas os flavonoides e os carotenos. As plantas podem ser tanto folhas, como cascas, sementes e/ou frutos. Os carotenos que podem ser citados são β -caroteno, licopeno, luteína, astaxantina, zeaxantina e outros. A vitamina C e E é responsável pela diminuição do estresse oxidativo, juntamente com o hormônio GSH, que é um tripeptídeo hidrossolúvel sintetizado no organismo das aves (FELLENBERG & SPEISKY, 2006).

O antioxidante natural mais eficiente conhecido é a vitamina E, além da função oxidante que ocorre a nível da membrana celular, a mesma representa importante função metabólica no organismo animal (RUTZ, 1994). Esta vitamina age na proteção dos ácidos graxos poli-insaturados presentes nos lipídios contra a ação dos radicais livres e da oxidação, cedendo elétrons e impossibilitando a formação dos peróxidos (BONDI, 1988).

Os extratos vegetais e os óleos essenciais vem sendo cada vez mais estudados na alimentação animal como antioxidante e na utilização como antimicrobianos melhoradores de desempenho, visto que seus efeitos são positivos (RIZZO et al., 2010).

Outra classe de compostos considerados importantes antioxidantes são os carotenoides, que são naturalmente coloridos e utilizados principalmente como pigmentantes. Os principais carotenoides são α -caroteno, β caroteno, β -criptoxantina, violaxantina e licopeno. Além de apresentarem grande importância em relação a atividade antioxidante, determinados carotenoides como β caroteno possuem atividade provitamina A (KIM et al., 2015).

2.2.1 Carotenóides

Os carotenoides, juntamente com as vitaminas, são as substâncias mais investigadas quanto ao efeito quimiopreventivos e ação como antioxidantes em sistemas biológicos (MOREIRA & SHAMI, 2004).

Portanto, os carotenoides são componentes essenciais e também apresentam funções de pigmentos naturais. Os mesmos são sintetizados por plantas e microrganismos (STAHL & SIES, 2003) e sua estrutura química é

composta por diversas ligações duplas conjugadas que determinam algumas funções biológicas e a sua cor (MOREIRA & SHAMI, 2004).

Nas plantas, essas substâncias desempenham como função primária absorver a luz durante o processo de fotossíntese, já nos microrganismos são responsáveis pela fotoproteção (MOREIRA & SHAMI, 2004).

As principais fontes de carotenoides são abóboras e cenouras (α e β - caroteno), tomates e seus derivados (licopeno), laranja (β - criptoxantina), espinafre (luteína) e algumas espécies de crustáceos e salmão que bioacumulam a astaxantina que, por sua vez, é produzida por algas (SILVA & NAVES, 2001).

O papel dos carotenoides como antioxidantes pode ser considerado complexo. Em determinadas circunstâncias eles mostram efeitos pró-oxidante, o que não anula os inúmeros efeitos benéficos a saúde. Portanto, estudos relacionados à utilização de dietas contendo carotenoides estão diretamente relacionadas a menores riscos de exposições dos seres vivos à condições patológicas (OLSON, 1999).

Nutricionalmente, os carotenoides podem ser classificados como próvitaminicos ou carotenoides inativos. Os carotenoides provitaminicos apresentam atividade provitamina A, e os inativos apresentam apenas atividades antioxidantes ou corante (OLSON, 1999). Quimicamente, os carotenoides foram classificados em dois grupos: carotenoides hidrocarbonados, denominados carotenos e carotenoides oxigenados, denominados xantofilas (GOODWIN, 1965).

Apesar de a gema do ovo ser uma fonte rica em carotenoides, sua coloração depende da quantidade de xantofilas absorvidas pela ave que se alimenta de milho ou ração (GARCIA et al., 2002). Outros fatores diretamente ligados ao perfil nutricional das gemas é a eficiência de absorção dos diferentes carotenoides no intestino e na medida que são convertidos em vitamina A na mucosa intestinal ou no fígado (HAMILTON, 1992).

Os carotenoides estão associados principalmente com lipídios dos tecidos das células de origem animal, incluindo membranas (BENDICH e OLSON, 1989). Pelo fato de não serem sintetizados pelas aves, eles devem ser fornecidos nas dietas, portanto, sua concentração na dieta está diretamente relacionada a sua

concentração nos tecidos. Desta forma, pesquisas comprovam que um dos fatores que influenciam diretamente na deposição de carotenoides é a disponibilidade de grupos funcionais que contenham oxigênio, por exemplo, grupos hidroxila, acetona, éster ou outros grupos, principalmente por apresentarem características polares.

Porém, a atividade antioxidante é altamente dependente de vários fatores, como por exemplo, o tipo de carotenoide e sua ação com o meio (FERNANDES, 2016). Os carotenoides ao combaterem as espécies reativas de oxigênio, podem interagir de três maneiras diferentes: transferência de elétrons; remoção de íons de hidrogênio ou adição de espécies de radicais (MORAIS, 2006).

A base da dieta das galinhas poedeiras é constituída principalmente por milho (70%). Desta forma, a coloração da gema do ovo é determinada pelos carotenoides presentes nos grão de milho. Este alimento é fonte de luteína, zeaxantina, criptoxantina e β -caroteno (KURILICH e JUVIK, 1999). Carotenoides como o β -criptoxantina e β -caroteno podem ser convertidos em vitamina A, porém a zeaxantina e a luteína são tranferidos de forma eficaz para a gema do ovo (KARADAS et al., 2006).

2.2.1.1 Licopeno

O licopeno é um carotenóide que possui a maior capacidade sequestrante do oxigênio singlete devido a sua estrutura química, pois além das 11 duplas ligações conjugadas, possui também duas duplas ligações não conjugadas, lhe conferindo maior reatividade (ANGUELOVA & WARTHESEN, 2000).

Este carotenoide possui uma estrutura simétrica e acíclica com 40 carbonos, sua fórmula molecular é $C_{40}H_{56}$ (Figura 1), sendo uma molécula mais solúvel em clorofórmio, benzeno e diversos solventes orgânicos do que em água (XIANQUAN et al., 2005).

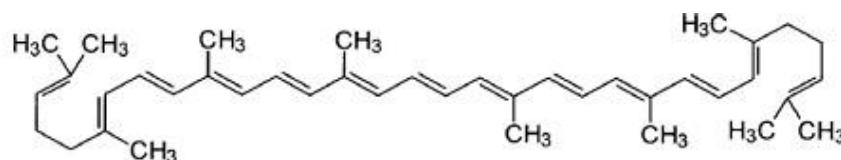


Figura 2. Estrutura molecular do licopeno

Fonte: EFSA, 2015

A molécula do licopeno, durante o processamento e armazenamento, passa por duas mudanças, sendo elas, isomerizações, das formas trans, cis e oxidação. Portanto, durante o processamento térmico, os carotenoides sofrem isomerização trans-cis em relação à combinação tempo e temperatura. Por isso, a degradação das moléculas de licopeno, resultantes da isomerização, afetam diretamente a oxidação e biodisponibilidade destas moléculas.

Estudos têm mostrado que a isomerização do licopeno da forma trans para cis ocorre devido a mudanças de sete ligações duplas conjugadas inicialmente durante o processamento térmico de alimentos, seguido pela degradação. Nenhuma isomerização trans-cis adicional foi relatada durante o armazenamento, no entanto, a reversão cis para forma trans e auto-oxidação foram observadas (LOVRIC et al., 1970).

A auto-oxidação do licopeno é irreversível e levará à fragmentação da molécula, produzindo acetona, metilheptenona, aldeído e, provavelmente, glicoxal, que causa perda de cor aparente, sabor e odor (SRIVASTAVA E SRIVASTAVA, 2015).

Além disso, o licopeno é considerado um dos principais responsáveis por diminuir os riscos de doenças crônicas, protegendo as células dos danos oxidativos, aumentando a comunicação celular e alterando os sistemas imunológicos hormonais e outras vias metabólicas (ZHANG et al., 1991).

Uma das principais causas do estresse oxidativo é a peroxidação lipídica nas células e tecidos das plantas e dos animais. Os ácidos graxos poliinsaturados são mais suscetíveis à oxidação. Napolitano et al. (2007) relataram que o licopeno permitiu reduzir tanto a peroxidação lipídica quanto o processo de oxidação lipídica gerada por MDA. Leal et al. (2003) acrescentaram licopeno aos alimentos para frangos e descobriu que a geração de MDA no

sangue foi significativamente reduzida. Entretanto, a geração de MDA sanguíneo foi significativamente inibida em codornas com a dieta contendo 100 mg / kg de licopeno. Estes estudos sugerem que o licopeno pode inibir a peroxidação lipídica (HSU et al., 2015).

Utilizando concentrações de licopeno de 0, 65, 257 e 650 ppm na ração de poedeiras, demonstraram que houve uma incorporação linear deste antioxidante nos ovos (OLSON; WARD; KOUTSOS, 2008). Além disso, outro estudo demonstrou que o licopeno apresenta maior capacidade de reter oxigênio singlete, comparados a outros carotenoides como o α -caroteno, β -caroteno e α -tocopherol (DI MASCIO et al., 1989).

Por isso, cada vez mais pesquisadores procuram descobrir os efeitos dessas moléculas, visto que, em pesquisas realizadas em mamíferos roedores, elas agem de forma que doam elétrons para suprimir e neutralizar os radicais livres reativos a oxigênio, isto faz com que consideradas fontes de envelhecimento e a causa de várias doenças degenerativas, sejam bloqueadas antes que prejudiquem as células (LIVNY et al., 2002).

2.2.1.2 Astaxantina

A astaxantina é o principal carotenoide encontrado, principalmente, em crustáceos (exemplo: lagostim, lagosta, caranguejo e camarão) e salmonídeos (truta, salmão), responsável pela coloração rosa-vermelho dos crustáceos e do salmão (OGAWA et al., 2000; EFSA, 2005; SEABRA & PEDROSA, 2010).

Além de ser sintetizado por crustáceos e salmonídeos, este carotenoide também pode ser isolado por algas (*Haematococcus pluvialis*), leveduras (*Phaffia rhodyma*) e algumas bactérias. Por apresentar capacidade antioxidante, este composto tem despertado grande interesse na medicina, principalmente, por suas funções biológicas (SEABRA & PEDROSA, 2010).

A astaxantina tem uma estrutura química caracterizada pela presença de uma longa cadeia hidrocarbonada, com duplas ligações conjugadas a um anel aromático em cada extremidade da cadeia, além disso é considerada um cetocarotenóide com 40 átomos de carbono (GOTO et al., 2001) (Figura 2). A estrutura química estaria consideravelmente relacionada a esta superioridade, pois os anéis polares da molécula removeriam espécies reativas de oxigênio na

superfície, enquanto a cadeia carbonada teria maior ação no interior da membrana (LORENTZ et al., 2000).

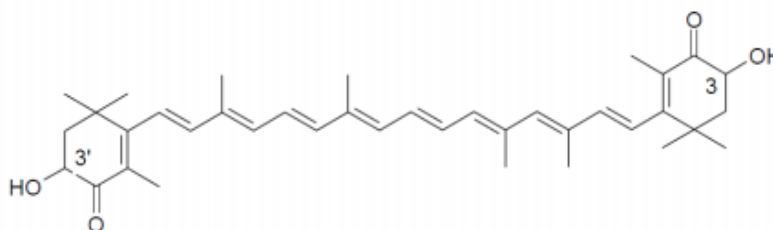


Figura 3. Estrutura molecular da astaxantina livre. Os átomos de carbono assimétricos estão representados nos números 3 e 3', respectivamente.

Fonte: EFSA (2005).

As propriedades estruturais da astaxantina não são estritamente hidrofóbicas ou hidrofílicas, devido à cadeia poliênica e aos anéis terminais, este fato permite a modificação da permeabilidade da membrana, com isso, protegendo tanto a parte externa quanto a parte interna contra danos oxidativos, tornando a membrana mais rígida (RÓLDAN & MACH, 2012).

De forma geral, a atividade antioxidante dos carotenoides aumenta, à medida que o número de dupla ligações conjugadas e grupos funcionais ligados aos anéis da extremidade da cadeia é aumentado (UENOJO et al., 2007). A astaxantina vem demonstrando um potencial antioxidante superior a outros carotenoides como zeaxantina, luteína, cantaxantina e β -caroteno e 100 vezes maior que o α -tocoferol.

O principal sítio de remoção de radicais livres é o grupo hidroxila no átomo de carbono três no anel polar da molécula de astaxantina. Estudo descreve que a astaxantina possui efeito protetor contra danos oxidativos por oxigênio singlete e por radicais hidroxilas (LORENTZ et al., 2000).

O oxigênio nos anéis terminais e a presença de hidroxila (-OH) na estrutura química da astaxantina atribui maior polaridade a este carotenoide comparada aos demais. Com isso, esta estrutura se orienta de forma que os dois anéis fiquem localizados na superfície e a cadeia carbonada no interior da membrana (GOTO et al., 2001).

Portanto, a atividade antioxidante da astaxantina e de outros carotenoides é explicada, por conta dos grupos oxigenados em cada anel presente na

estrutura química. É importante destacar que diversos estudos clínicos realizados em seres humanos, relataram que a ingestão de carotenoides pode diminuir o risco de degeneração, doenças cardíacas, câncer e, principalmente, proteger contra infecções microbianas (LORENZ e CYSEWSKI, 2000).

Embora seja conhecido a restrição da utilização de determinados antioxidantes, pela União Européia, a Food and Drug Administration (FDA) aprovou a utilização da astaxantina na alimentação de galinhas poedeiras e na aquicultura (principalmente salmão, truta e camarão) no ano de 1987 (RÓLDAN & MACH, 2012).

A utilização da astaxantina natural derivada de *Haematococcus* tem sido usada como pigmento para gema de ovos de Galinhas da linhagem White Leghorn, que foram inicialmente alimentadas com dieta basal por duas semanas, após o fornecimento das dietas contendo astaxantina oriundas de *Haematococcus*, foram obtidas 4 colorações diferentes de pigmentos das gemas dos ovos, variado de valores entre 5,8 a 11,8 (LORENTZ et al., 2007).

Outro estudo realizado com utilização da astaxantina, presente em levedura *Phaffia rhodozyma*, permitiu que fossem encontrados astaxantina na forma trans em músculos e no fígado dos frangos, aumentando progressivamente o valor da coloração da carne do peito. Este trabalho demonstrou que a astaxantina é parcialmente metabolizada no fígado das aves. Portanto a função biológica de carotenóides tem recebido uma atenção significativa nos últimos anos. A astaxantina mostra maior atividade antioxidante e propriedades imunomoduladoras em tecidos animais.

Além disso, a astaxantina depositada no tecido das aves, pode ser de interesse do ponto de vista da prevenção da peroxidação que pode ocorrer nestes tecidos, desse modo, poderia ser uma fonte de alimentação para consumo humano, que também tenha uma função adicional biológica (AKIBA et al, 2001).

2.2.1.3 Luteína

A luteína exerce funções antioxidantes em fases lipídicas, portanto, realiza o bloqueio dos radicais livres que danificam as membranas lipoprotéicas. Estas funções antioxidantes inativam os radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos (SILVA et al., 2001).

As propriedades antioxidantes dos carotenoides vêm sendo atribuídas à sua estrutura química, ou seja, pelo elevado número de duplas ligações alternadas (Figura 3).

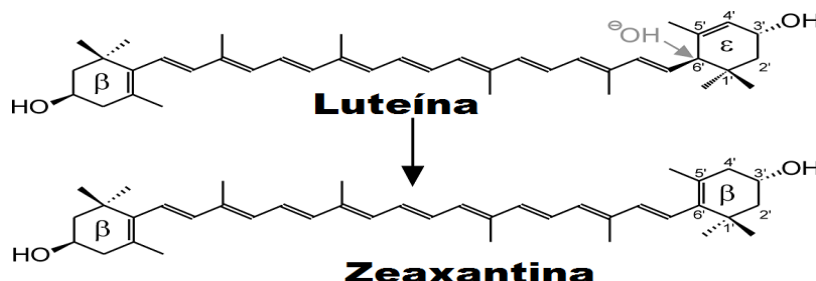


Figura 4- Estrutura Molecular da Luteína e Zeaxantina
Fonte: ESDA

A capacidade de sequestro de oxigênio singlete pelos carotenos e xantofilas é considerada máxima para o licopeno, alta para a astaxantina, intermediária para o β -caroteno e menor para a luteína e crocina. É muito importante lembrar que a orientação e o local que os carotenoides atuam na membrana biológica depende da sua estrutura. Esta estrutura afeta também a capacidade do mesmo em eliminar os radicais livres (MELLO et al., 2002).

O mecanismo de ação da luteína consiste na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos. Por exercer funções antioxidantes em fases lipídicas, bloqueia os radicais livres que danificam as membranas lipoprotéicas. As propriedades antioxidantes dos carotenóides são atribuídas à sua estrutura, pela presença de elevado número de duplas ligações alternada (EL AGAMEY et al., 2003.)

Estas permitem a absorção da energia das espécies reativas do oxigênio (EROs), canalizando-a através da longa cadeia de duplas ligações que se encontram em ressonância. A energia é finalmente liberada na forma de calor, regenerando a molécula de carotenóide ao seu estado inicial. Desta forma, o princípio da proteção conferida pela luteína contra reações de fotossensibilização baseia-se num mecanismo de transferência de energia, que devolve o oxigênio singlete ao seu estado basal. O retorno da luteína triplete ao

seu estado original, pela dissipação de energia na forma de calor, torna possível a reação com outro oxigênio singleto (SOUTHON et al, 2003).

Portanto os carotenos que apresentam características apolares inviabilizam termodinamicamente a transferência de elétrons que ocorre na membrana celular. No entanto, a luteína e a zeaxantina que são xantofilas com caráter mais polar, atravessam a membrana e interceptam os radicais livres em regiões aquosas na superfície da membrana (LANDRUM et al., 2001).

A luteína apresenta grande influência sobre a imunidade das galinhas, sendo observada principalmente quanto a resposta imunológica dos anticorpos, afim de aumentar a eficácia da vacinação contra a bronquite infecciosa (BEDECARRATS & LEESON, 2006).

Além de grande contribuição ao sistema imune das aves, as xantofilas, como luteína, apresentam propriedades pigmentantes. O β -caroteno e a luteína, principalmente, incorporam-se aos linfócitos, principalmente aos linfócitos T, e neutrófilos, sendo eficazes na proteção das suas proteínas, membranas lipídicas e DNA contra os danos causados pelos radicais livres (CHEW & PARK, 2004).

Em pesquisa utilizando gatos idosos demonstrou que a suplementação dietética de luteína resultou em maior título de anticorpos e maior proliferação de linfócitos mediante estimulação com concanavalina A (mitógeno indutor de produção de linfócito T) (HARPER, 2001).

2.3 Absorção e metabolismo de carotenoides

Os carotenoides são hidrofícos, ou seja, não são solúveis no ambiente aquoso do trato gastrointestinal. Portanto precisam ser dissolvidos/transportados em lipídios e sistemas de lipídios com sais biliares, para que assim, possam ser absorvidos na borda em escova do enterócito. A absorção parece ser assistida pela presença de lipídios da dieta e enzimas digestivas, como as lipases (VAN HET HOF et al., 2000; PARKER, 1996).

Por sua vez, as lipases produzem ácidos graxos livres que são incorporados às micelas mistas (sais biliares, lecitina, acil gliceróis, ácidos graxos livres e componentes lipofílicos menores). Deste modo o processamento de alimentos que contém carotenoides na presença de gorduras melhora a disponibilidade destes, para absorção, isto se deve pois os carotenoides têm

assim a oportunidade de transferir-se para a fase lipídica antes da ingestão. Os carotenoides são absorvidos passivamente no enterócito, da fase micelar da digestão.

No entanto, não se sabe se todos os carotenoides presentes em uma micela mista são absorvidos, ou se algum (talvez seletivamente) é deixado para trás, em associação com sais biliares não absorvidos e colesterol, sendo então excretado (PARKER, 1996).

A absorção dos carotenoides requer que eles sejam liberados para a matriz alimentar, e sejam solubilizados em gotículas de óleo. Em seguida são transferidos para sais biliares que são misturados nas micelas, que posteriormente serão geradas durante o processo de digestão dos triglicerídeos (TAG), fosfolipídios e ésteres de colesterol para formar ácidos graxos livres, mono e di-acilglicerídeos, superfosfolipídios e colesterol livre (HARRISON, 2012).

O diâmetro médio das micelas mistas é menor que o diâmetro dos poros da rede de glicoproteínas de mucina (100-300 nm), que separam a mucosa intestinal do lumen (BAJKA et al., 2015). Portanto as micelas geradas se difundem através da camada de mucina na superfície da célula apical da absorção das células epiteliais que revestem a borda luminal do trato gastro intestinal. Os carotenoides e outros compostos solúveis em gordura, interagem com as membranas de borda em escova para a transferência para o interior da célula, posterior dissociação dos sais biliares nas micelas que serão reabsorvidos principalmente no íleo. Não está claro se as proteínas estão diretamente relacionadas a transferência dos carotenoides do espaço extracelular para o interior da célula, ou se são componentes responsáveis pelos complexos de membranas que internalizam os carotenoides nas células (REBOUL, 2013).

A transferência de carotenoides e outros compostos lipossolúveis da matriz alimentar em micelas mistas durante a digestão está relacionada com a bioacessibilidade, sendo este, um processo preliminar necessário, pelo qual o composto torna-se acessível para a absorção apical, pela mucosa intestinal (FAILLA et al., 2008).

A extensão da absorção dos carotenoides e a entrega dos mesmos, aos tecidos alvo, é afetada pelas características físico-químicas destes pigmentos,

sua retenção e liberação para a matriz alimentar, muito está ligado ao processamento, pós colheita e preparação da refeição. Bem como também, o genótipo e o estado nutricional e fisiológico do hospedeiro, desencadeiam influências sobre a absorção dos carotenoides (KOPEC et al, 2018).

2.4 Sinergismo entre carotenoides

É reconhecido que os processos metabólicos normais do organismo produzem a maioria destes radicais livres, porém em determinadas condições e em consequência do que o animal ingere, a produção dos radicais livres é aumentada e, conseqüentemente, a ocorrência de doenças também. No entanto, os animais possuem um sistema próprio para reagir contra esses ataques dos radicais livres (ROCHA, 2008).

No entanto, evidências estão colaborando para demonstrar os benefícios do aumento significativo da adição de antioxidantes em dietas para que seja dado suporte à própria produção do organismo. É importante destacar que a adição de mais de um antioxidante pode apresentar efeito sinérgico ao combate dos radicais livres produzidos pelo organismo (ROCHA, 2008).

As misturas de carotenoides mostraram-se mais eficazes do que a utilização destes compostos de maneira individual, de forma que no ensaio de TBARS e efeitos sinérgicos foram evidentes para as misturas contendo licopeno ou luteína (STAHL et al., 1998). Neste sentido, efeitos sinérgicos para a presença de MDA também foram observados para combinações de licopeno e α -tocoferol utilizando diferentes métodos experimentais e de extração destes carotenoides (SHI et al., 2007).

Em estudo testando a atividade sequestrante de oxigênio, de misturas de carotenoides como licopeno, α -tocoferol e β -caroteno, na produção do radical livre DPPH, foi observado efeito sinérgico para maior atividade sequestrante de oxigênio para a mistura licopeno + β -caroteno e licopeno + α -tocoferol (KAKUDA e JUN XUE, 2008).

Em estudo realizado por Burton (1989), hipotetizou-se que o α -tocoferol e β -caroteno desempenham funções complementares em relação às variadas tensões de oxigênio nas membranas biológicas, de forma que, o β -caroteno melhora as tensões fisiológicas de oxigênio. Posteriormente, foi demonstrado

por Palozza (1991), que o α -tocoferol e β -caroteno exercem efeito aditivo na inibição da peroxidação lipídica que é iniciada por radicais livres.

Diferentes tipos de antioxidantes naturais são presentes em frutas e legumes, os ovos possuem funções sinérgicas que são importantes por sua atividade e potencial regenerativo. Por exemplo, o ascorbato pode regenerar para α -tocoferol, e o radical ascorbato é regenerado para outros antioxidantes via ciclo redox tiol. Todas as interações são conhecidas como “rede antioxidante” (HAN et al., 2007; PACKER et al., 2001).

A vitamina E é um antioxidante que penetra rapidamente através da pele e é incorporada nas membranas celulares inibindo a peroxidação lipídica, especificamente a isoforma α -tocotirenol da vitamina E apresenta maior proteção. Além disso a vitamina E tem propriedades antiproliferativas que interferem na transdução de sinal e induzem a célula do ciclo de parada (PACKER et al., 2001).

Porém, ainda são escassos os estudos em relação a todos os efeitos sinérgicos dos antioxidantes, por este fato, cada vez mais pesquisas são realizadas, para que novas misturas sejam estudadas.

3. Objetivos

3.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da inclusão de carotenoides; combinados ou não combinados nas rações sobre o desempenho, a qualidade e estabilidade oxidativa de ovos de poedeiras comerciais.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o desempenho de poedeiras de ovos brancos alimentadas com rações contendo astaxantina, luteína e licopeno, combinados ou não;
- Analisar a qualidade interna e externa de ovos produzidos por poedeiras leves alimentadas com rações contendo astaxantina, luteína e licopeno;
- Verificar se a combinação ou não de astaxantina, luteína e licopeno nas rações de poedeiras influencia a qualidade interna de ovos para consumo

armazenados em temperatura ambiente e refrigerada por diferentes períodos de armazenamento;

- Avaliar o efeito da suplementação de rações para poedeiras com astaxantina, luteína e licopeno, combinados ou não, sobre a estabilidade oxidativa de ovos para consumo durante o armazenamento por diferentes períodos de armazenamento, sob temperatura ambiente e refrigerada.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2018**. 144. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/8ca705e70f0cb110ae3aed67d29c8842.pdf>>. Acesso em: 03 de janeiro de 2019.

ANGUELOVA, T.; WARTHESEN, J. Degradation of lycopene, α -carotene, and β -carotene during lipid peroxidation. **Journal of Food Science**, v.65, n.1, p.71-75, 2000.

BAJKA, B.H; RIGBY, N. M; CROSS, K.L; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A.R. The influence of small intestinal mucus structure on particle transport ex vivo, **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 135 (2015) 73-80

BEDECARRATS, G.Y., LEESON, S., 2006. Dietary lutein influences immune response in laying hens. **Journal of Applied Poultry Research** 15, 183e189.

BENDICH, A.; OLSON, J. A. Biological actions of carotenoids. **Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology** – FASEB, 1989. v. 3, p. 1927-1932. Disponível em: . Acesso em: 05 nov. 2009.

BISCARO, L.M.; CANIATTI-BRAZACA, S.G. Cor, betacaroteno e colesterol em gema de ovos obtidos de poedeiras que receberam diferentes dietas. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.6, p.1130-1134, 2006.

BONDI, A. A. Animal nutrition. Zaragoza – Espanha: **Acribia S. A.**, 1988. 546p.

BOTSOGLOU, E.; GOVARIS, A.; FLETOURIS, D.; BOTSOGLOU, N. Lipid oxidation of stored eggs enriched with very long chain n3 fatty acids, as affected by dietary olive leaves (*Olea europea* L.) or α -tocopheryl acetate supplementation. **Food Chemistry**, v. 134, p. 1059-1068, 2012.

BRASIL. **Resolução CNS/MS nº 04**, de 24 de novembro de 1988. Disponível em: . Acesso em jan. 2019.

- BURTON, G.W. (1989) Antioxidant action of carotenoids. **J Nutr** 119:109-111
- BUTOLO, J.E. Utilização de ingredientes líquidos na alimentação animal. In: **Simpósio Sobre Ingredientes Na Alimentação Animal**, 2001. Campinas, Anais..., Campinas: CBNA, 2001. p.295-334.
- CADENAS, E. AND DAVIES, K.J.A. (2000) Mitochondrial Free Radical Generation, Oxidative Stress, and Aging. **Free Radical Biology and Medicine**, 29, 222-230.
- CARVALHO, M. G. **Influência do processamento, de antioxidantes e da estocagem sobre a estabilidade oxidativa lipídica do ovo**. 2012. 156p. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- CHEW, B.P.; PARK, J.S. Carotenoid action on the immune response. **Journal of Nutrition**, v.134, p.257-261, 2004.
- DI MASCIO, P.; KAISER S.; SIES, H.; **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 1989, Vol.274, No. 2, 532-538.
- EFSA – European Food Safety Authority. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Food Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. **EFSA Journal**. v.765, p.1-8. 2008.
- EL-AGAMEY A., D.J.; MCGARVEY, D. J. Evidence for a lack of reactivity of carotenoid addition radicals towards oxygen: a laser flash photolysis study of the reactions of carotenoids with acylperoxyl radicals in polar and non-polar solvents, **J. Am. Chem. Soc.** 125 (2003).
- ESTÉVEZ, M., Oxidative damage to poultry: from farm to fork. **Poult. Sci.** 94, 13681378. 2015.
- FAILLA K.; STICHLER J. Manager and staff perceptions of managers leadership style. **J Nurs Adm.** 2008;38(11):480–487.
- FELLENBERG, J. M. S.; SPEISKY, H. Antioxidants: their effects on broiler oxidative e stress and its meat oxidative stability. **World's Poultry Science Journal**, 62:53-70, 2006.
- FERNANDES, E. T. M. B.; MACIEL, V. T.; SOUZA, M. L. D.; FURTADO, C. D. M.; WADT, L. H. D. O.; CUNHA, C. R. D. Physicochemical composition, color and sensory acceptance of low-fat cupuaçu and açaí nectar: characterization and changes during storage. **Food Science and Technology**, v. 36, n. 3, p. 413-420, 2016.
- FERNANDES, M. O. **Utilização de vitmina E, selênio e cantaxantina na produção e qualidade de ovos de poedeiras comerciais**. Dissertação

(mestrado)- Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais , Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, RS, 2018. 71 f.

Food and Drug Administration and Center for Drug Evaluation and Research. - **Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods.** Rockville, MD: US FDA Federal Register, 1994.

FRANCESCH, A. et al. Genetic parameters for egg number, egg weight, and eggshell color in three Catalan poultry breeds. **Poult. Science.**, v. 76, n. 12, p. 1627-1631, Dec. 1997

FRIDOVICH, I. The biology of oxygen radicals. **Science.** V. 201, p. 875-880, 1978.

GARCIA, E. R. M.; ORLANDI, C. C. B.; OLIVEIRA, C. A. L.; CRUZ, F. K.; SANTOS, T. M. B.; OTUTUMI, L. K. Qualidade de ovos de poedeiras semipesadas armazenados em diferentes temperaturas e períodos de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p. 505-518 , 2010

GOODWIN, T.W. **Chemistry and biochemistry of plant pigments.** Academic Press. 1965

GOTO S et al. Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. **Biochim. Biophys. Acta.** 2001; 1512: 251-258

HAMILTON, P. B. (1992). The use of high-performance liquid chromatography for studying pigmentation. *Poultry Science*, 71, 718–724.

HAMILTON, R. J.; ROSSELL, J. B.; HUDSON, B. J. F.; LÖLIGER, J.; In Rancidity in Foods; Allen J. C., Hamilton R. J., Ed.; **Applied Science Publishers LTD.**; London, 1983, p. 1.

HAN, R.M., TIAN, Y.X., BECKER, E.M., ANDERSEN, M.L., ZHANG, J.P., SKIBSTED, L.H. (2007) Puerarin and conjugate bases as radical scavengers and antioxidants: molecular mechanism and synergism with beta-carotene. **J Agric Food Chem.** Vol. 55(6), pp. 2384-2389.

HARPER, J. Feline immunocompetence, ageing and role of antioxidants. In: WSAVA CONGRESS, 2001, Vancouver. **Abstracts...Vancouver**, p.63, 2001.

HARRISON, E. H. Mechanisms involved in the intestinal absorption of dietary vitamin A and provitamin A carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, [s.l.], v. 1821, p. 70- 77, 2012.

HSU, W.-T., CHIANG, C.-J., CHAO, Y.-P. et al. Effects of recombinant lycopene dietary supplement on the egg quality and blood characteristics of laying quails. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2015. 120(5), 539–543.doi:10.1016/j.jbiosc.2015.03.016

IBGE, Censo Demográfico, 2018 Disponível em: www.ibge.gov.br. Acesso em: 27 de dezembro de 2018.

JARDINI, F. A.; FILHO, J. M. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, 2007.

KAKUDA, Y., JUN XUE, S., JIANG, Y., KOIDE, S., et al. (2007). Investigation of the antioxidant and synergistic activity of lycopene and other natural antioxidants using LAME and AMVN model systems. **Journal of Food Composition and Analysis**, 20, 603–608.

KARADAS, F. et al. Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. **British Poultry Science**, n. 47, p. 561-566, 2006.

KIM, H. J., PARK, W. S., BAE, J. Y., Variations in the carotenoid and anthocyanin contents of Korean cultural varieties and 403 home-processed sweet potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, 41, 188– 404 193. 2015

KOHEN R.; NYSKA A. (2002) Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. **Toxicol Pathol** 30:620-650.

KOPEC, R. E.; FAILLA, M. L. Recent advances in the bioaccessibility and bioavailability of carotenoids and effects of other dietary lipophiles, **J. Food Comp. Anal.** (2018)

KOUTSOS, E. A.; SMITH, J.; WOODS, L. W.; KLASING, K. C. Cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) at maintenance are more sensitive to diets containing excess vitamin A than to vitamin A–deficient diets. **Journal of Nutrition**, n. 133, p. 1898-1902, 2003.

KURILICH, A.C.; JUVIK, J.A. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. **J. Agric. Food Chem.** v.47, p.1948-1955, 1999.

LANDRUM, J.T.; BONE, R.A. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 385, n. 1, p. 28-40, 2001.

LEAL, P.F. et al. Functional properties of spices extracts obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.9, p.2520-2525, 2003

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. Nutrition of the chicken. 4^a ed. Canada: **University Books**. 2001. 591p.

- LIVNY, O., et al. Lycopene inhibits proliferation and enhances gap-junction communication of KB-1 human oral tumor cells. **Journal of Nutrition**. v. 132, n. 12, p. 3754-3759, 2002.
- LORENZ RT, CYSEWSKI GR. Commercial potential for Haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin. **Trends Biotechnol.**2000;18(4):160-7.
- LOVRIC, T., SABLEK, Z., BOSKOVIC, M., 1 Cis-trans isomerisation of lycopene and colour stability of foam-mat dried tomato powder during storage. **J. Sci. Food Agric.** 21, 641–647. 1970.
- MELLO, M.C. **Flores e microalgas como fontes alternativas de carotenóides**. 2002. 113f. Tese(Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
- MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. In: **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v. 36, n.1, p. 1-11, 2002.
- MIN, B., AHN, D.U., Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products -A Review. **Food Sci. Biotechnol.** 14, 152163. 2005.
- MOHITI-ASLI, M., SHARIATMADARI, F. and LOTFOLLAHIAN, H. (2010) The influence of dietary vitamin E and Se on egg production parameters, serum and yolk cholesterol and antibody response of laying hen exposed to high environmental temperature. **Archiv für Geflügelkunde** 74: 43-50.
- MORAIS, F. L. **Carotenóides - características biológicas e químicas**. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, 2006.
- MUJAHID, M.S. *et al.* Assessing the measurement properties of neighborhood scales: from psychometrics to econometrics. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.165, n.8, p. 858-867, 2007.
- NAPOLITANO, M.; DE PASCALE, C.; WHEELER-JONES, C.; BOTHAM, K.M.; BRAVO, E. Effects of lycopene on the induction of foam cell formation by modified LDL. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** 2007, 293, 1820–1827
- NORDBERGJ, J.; ARNÉR, E.S.J. Reactive oxygen species antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.31, n.11, p. 1287-1312, Dec. 2001.
- OGAWA, M., MAIA, E., MAIA, E., FERNANDES, A., NUNES, M., OLIVEIRA, M. & FREITAS, S. - **Resíduos do beneficiamento do camarão cultivado: obtenção de pigmentos carotenóides**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 27, 2 (2000), 333-337.

- OLSON, J. A. Carotenoids and human health. **Arch Latinoamerican Nutr.** v. 49, p. 7-11, 1999.
- OLSON, J.B.; WARD, N.E.; KOUTSOS, E.A. Lycopene incorporation into egg yolk and effects on laying hen immune function. **Poultry Sci.**, v.87, p.2573-2580, 2008.
- PARK, J. S. Carotenoid action on the immune response. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 257–261, 2004.
- PARKER K.C, HAMRICK J.L, PARKER A.J., NASON JD (2001) Fine-scale genetic structure in *Pinus clausa* (Pinaceae) populations: effects of disturbance history. **Heredity**, 87, 99–113.
- PARKER, R. S. **Absorption, metabolism, and transport of carotenoids.** FASEB J, 1996. v.10, p. 542-551
- PASSOTTO, J. A.; PENTEADO, M. V. C.; MANCINI-FILHO, J. Atividade antioxidante do β -caroteno e da vitamina A. Estudo comparativo com antioxidante sintético. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, 1998.
- PEREIRA, A. L. F. **Efeito dos lipídios da ração sobre a qualidade, composição e estabilidade dos ovos de poedeiras comerciais.** 2009. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.
- PITA, M. C. G.; PIBER NETO, E.; NAKAOKA, L. M.; MENDONÇA JR, C. X. Efeito da adição de ácidos graxos insaturados e de vitamina E à dieta de galinhas e seu reflexo na composição lipídica e incorporação de alfa-tocoferol na gema do ovo. **Brazilian journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 25 – 31, 2004.
- RACANICCI, A. M. C.; MENTEN, J. F. M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; GAIOTTO, J. B.; LONGO, F. A.; PEDROSO, A. A.; SORBARA, J. O. B. Oxidação lipídica do óleo de vísceras de aves reduz o seu conteúdo de energia metabolizável para frangos de corte na fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 33(4):919-923, 2004.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.
- REBOUL, E. **Absorption of vitamin A and carotenoids by the enterocyte: focus on transport proteins**, *Nutrients* 5 (2013) 3563–3581.
- RIZZO, P. V.; MENTEN, J. F.; RACANICCI, A. M. C.; TRALDI, A. B.; SILVA, C. S.; PEREIRA, P. W. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 39, n. 4, p. 801-807, 2010.

- ROCHA, M. A. Biotecnologia na nutrição de cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, suplemento especial p.42-48, 2008
- RÓLDAN, P. & MACH, N. – **Efecto del consumo de astaxantina en la salud**. Revista Española de Nutrición Comunitaria. 18, 3 (2012), 164-177.
- RUTZ, F. Uso de antioxidantes em rações e subprodutos. In: **CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS**, 1994, Campinas. Anais... Campinas: FACTA, 1994. P. 73-84.
- SHAHIDI, F. **Antioxidants in food and food antioxidants**. Nahrung, v.44, n.3, p. 158- 163, 2000.
- SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**. Florianópolis, v. 17, n. 2, p. 227-236, abr./jun., 2004.
- SHI, J., QU, Q., KAKUDA, Y., JUN XUE, S., JIANG, Y., KOIDE, S., et al. (2007). Investigation of the antioxidant and synergistic activity of lycopene and other natural antioxidants using LAME and AMVN model systems. **Journal of Food Composition and Analysis**, 20, 603–608.
- SILVA, A.G da. **Extração e estabilidade dos carotenóides obtidos do tomate processado (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. 2001. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) -Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010
- SILVA, C. R. M; NAVES, M. M. V. Suplementação de vitaminas na prevenção de câncer. *Revista Nutrição*, Campinas, SP, v. 14, n. 2, p. 135-143, maio-ago. 2001.
- SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, SP. vol. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p.71-81, jan/abr. 2002.
- SOUTHON, S.; FAULKS, R. Carotenoids in food: bioavailability and functional benefits. In: _____. **Phytochemical functional foods**. Chicago: Woodhead CRC LLC, 2003. cap. 7.
- SOUZA-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. Aves e ovos. Pelotas: **Editora da Universidade UFPEL**, 2005. 137p.
- SRIVASTAVA, R.K.; PANDEY, P.; RAJPOOT, R.; RANI, A.; GAUTAM, A.; DUBEY, R.S. (2015) Exogenous application of calcium and silica alleviates cadmium toxicity by suppressing oxidative damage in rice seedlings. **Protoplasma** 252:959–975

- STADTMAN, E. R.; LEVINE, R. L. Protein oxidation. Reactive oxygen species: From radiation to molecular biology. **Ann NY Acad Sci.** V. 899, p. 191-208, 2000.
- STAHL, W.; JUNGHANS, A.; DE BOER, B.; DRIOMINA, E. S.; BRIVIBA, K., & SIES, H. (1998). Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. **FEBS Letters**, 427, 305–308
- STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Mol Aspects Med.** v. 24, p. 345-351, 2003.
- TAKEMOTO, E.; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T. Validação de metodologia para determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1189-1194, 2009
- UENOJO, M., JUNIOR, M. & PASTORE, G. – **Carotenóides: Propriedades, Aplicações e Biotransformação para formação de compostos de aroma.** Química Nova. 30, 3 (2007).
- VAN HET HOF, K. H., WEST, C. E., WEATSTRATE, J. A., HAUTVAST, J. G. A. J. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoides. **J. Nutr.**, 2000. v.130, p. 503-506.
- WANG, S. Y.; BOTTJE, W.; MAYNARD, P.; DIBNER, J.; SHERMER, W. Effects of Santoquim and oxidized fat on liver and intestinal glutathione in broilers. **Poultry Science**, 76:961-967, 1997.
- WILLIAMS, A. W.; BOILEAU, T. W. M.; ERDMAN, J. W. Jr. Factors influencing the uptake and absorption of carotenoids. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.** p. 106-108, 1998
- XIANQUAN, S., et al. Stability of Lycopene During Food Processing and Storage. **Journal of Medicinal Food.** v. 8, n. 4, p. 413–422, 2005.
- ZHANG I. X.; COONEY, R. V.; BERTRAM, J. S. Carotenoids enhance gap junctional communication and inhibit lipid peroxidation in C3H/10T1/2 cells: relationship to their cancer chemopreventive action, **Carcinogenesis** 12 (1991) 2109–2114.

CAPITULO II

Artigo elaborado segundo adaptações das normas do Anais da Academia Brasileira de Ciências.

**DESEMPENHO, QUALIDADE E ESTABILIDADE OXIDATIVA DE
OVOS DE POEDEIRAS BRANCAS ALIMENTADAS COM
CAROTENOIDES**

PATRÍCIA G. SANTANA¹ & ELIS R. M. GARCIA²

¹Acadêmica do Curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, UEMS, Aquidauana, MS, Brasil

² Professora Adjunta do Curso de Zootecnia e do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, UEMS – Rodovia Aquidauana/UEMS – Km 12 – CEP: 79200-000 – Aquidauana, MS, Brasil. E-mail:ermgarcia@uems.br. Autor para correspondência.

RESUMO: Com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de carotenoides sobre o desempenho, qualidade e estabilidade oxidativa de ovos de poedeiras comerciais armazenados, 240 poedeiras, foram distribuídas em um DIC com oito tratamentos, cinco repetições e seis aves por unidade experimental. As rações experimentais foram: ração controle (sem carotenoides); com adição de astaxantina (AXT, 10 mg.kg⁻¹); com adição de luteína (LUT, 10 mg.kg⁻¹); RC com adição de licopeno (LIC, 10 mg.kg⁻¹); com adição de AXT e LUT; com adição de AXT e LIC; com adição de LUT e LIC; e com adição de AXT, LUT e LIC. Para avaliação da qualidade e da estabilidade lipídica, os ovos foram armazenados em temperatura ambiente (TA) e refrigerada (TR) e analisados frescos, aos 15 e 30 dias. Adotou-se um DIC em esquema fatorial 8 x 2 (tratamentos x períodos de armazenamento). O desempenho zootécnico não foi afetado significativamente. Em relação a qualidade dos ovos, somente a variável CGC apresentou diferenças significativas. Em relação a concentração de malonaldeído nos ovos, os menores resultados foram obtidos para a RC e RC com AST, em relação a RC com LIC para os ovos em TA. Para os ovos em TR os menores resultados foram obtidos para a RC e RC com AST, em relação a RC com LUT + LIC e AST + LUT + LIC. A qualidade dos ovos foi negativamente influenciada pelo período de armazenamento. Conclui-se que a inclusão de carotenoides em rações para poedeiras comerciais não influencia o desempenho e a qualidade dos ovos, exceto a coloração. Vários fatores influenciam a absorção e incorporação dos carotenoides à gema, como estabilidade e competição entre os compostos.

Palavras-chave: Armazenamento, astaxantina, cor, luteína, licopeno, TBARS.

PERFORMANCE, QUALITY AND OXIDATIVE STABILITY OF EGGS OF LAYING HENS FED WHITE CAROTENOIDS

ABSTRACT: With the object to evaluate the effects of carotenoid inclusion on performance, quality and oxidative stability of eggs from commercial laying hens, 240 laying hens, were distributed in a DIC with 8 treatments, 5 replicates and 6 birds per experimental unit. The experimental diets were: control diet (without carotenoids); with addition of astaxanthin (AXT, 10 mg.kg⁻¹); with addition of lutein (LUT, 10 mg.kg⁻¹); RC with addition of lycopene (LIC, 10 mg.kg⁻¹); with addition of AXT and LUT; with addition of AXT and LIC; with addition of AXT, LUT and LIC, To evaluate the quality and lipid stability, the eggs were stored at room temperature (RT) and refrigerated (TR) and analyzed fresh at 15 and 30 days. The DIC was adopted in a factorial scheme 8x2 (treatments x storage periods). Zootechnical performance was not significantly affected. Recording egg quality, only the CGC variable presented significant differences. Regarding the concentration of malonaldehyde in the eggs, the lowest results were obtained for RC and RC with AST, in relation to RC with LIC for eggs in RT. For eggs in TR, the lowest results were obtained for RC and RC with AST, compared to RC with LUT + LIC and AST + LUT + LIC. A egg quality was negatively influenced by storage period. It was concluded that the inclusion of carotenoids in feed for commercial laying hens does not influence the performance and quality of the eggs, except the coloration. Several factors influence the absorption and incorporation of carotenoids to the yolk, such as stability and competition between the compounds.

Key words: Astaxanthin, color, lutein, lycopene, storage, TBARS.

Introdução

O crescente avanço em relação à produção de alimentos com alto valor biológico para a alimentação humana, faz com que a avicultura de postura se adeque às novas tecnologias. Este fato acarreta melhorias na produção das aves e, consequentemente, no menor custo de produção para atender estes avanços (VIANA et al., 2009).

Para que todo o potencial nutritivo do ovo seja otimizado é necessário que ele seja preservado durante o período de comercialização, uma vez que podem transcorrer semanas entre o momento da postura, aquisição e preparo. Quanto maior for esse período, pior será a qualidade interna dos ovos, já que eles tendem a perder sua qualidade de maneira contínua após a postura (MORENG & AVENS, 1990).

Portanto, é importante que tecnologias sejam empregadas para manter a qualidade dos ovos após a postura, aumentando a vida útil do ovo e seus derivados (CARVALHO et al., 2007). A produção animal e a tecnologia de alimentos têm investido em pesquisas com aditivos antioxidantes e seus efeitos sobre o tempo de prateleira e a qualidade nutricional dos alimentos (HAYAT & CHERIAN, 2010).

Os ovos possuem em sua composição grandes quantidades de ácidos graxos insaturados, considerados menos estáveis aos processos de oxidação lipídica, limitando assim a capacidade de conservação (PITA et al., 2004).

O uso de antioxidantes, de origem natural ou sintética, podem minimizar os problemas relacionados a oxidação dos alimentos. Entretanto, os riscos à saúde, oriundos da utilização dos antioxidantes sintéticos, relacionados ao consumo crônico dessas substâncias são preocupantes e cada vez mais estudados (MARTINEZ-TOME et al., 2001).

Os principais antioxidantes nos vegetais são as vitaminas C e E, os flavonóides, fenólicos, especialmente os carotenoides. Sendo os principais antioxidantes naturais a astaxantina, luteína, licopeno, zeaxantina, cantaxantina. Tais substâncias têm demonstrado alto potencial antioxidante, podendo ser usadas como conservantes naturais para alimentos (ZHENG e WANG, 2001).

Os radicais livres são produzidos de forma natural durante o processo de oxidação. Portanto a utilização de antioxidantes, como os carotenoides, principalmente a astaxantina, a luteína e o licopeno, são uma alternativa de auxiliar o sistema enzimático contra o ataque dos radicais livres. Além disso, o sinergismo entre os antioxidantes, pode auxiliar os mecanismos de defesa do organismo contra a produção excessiva de radicais livres, pois possuem diferentes características e consequentemente diferentes ações, contribuindo para que a preoxidação não ocorra (SOUTHON, 2000; BARREIROS et al., 2006).

Desta forma, realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de carotenoides nas rações sobre o desempenho, qualidade e estabilidade

oxidativa dos ovos de poedeiras brancas, armazenados por até 30 dias em temperatura ambiente e sob refrigeração.

Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Campo Demonstrativo de Produção Zootécnica em Avicultura e Laboratório de Qualidade de Produtos de Origem Animal da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UEMS, protocolo nº 038/2017.

Foram utilizadas 240 poedeiras brancas da linhagem Dekalb White, com 76 semanas de idade, durante o período de 112 dias, divididos em quatro ciclos de 28 dias cada.

As aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado com quatro divisões de 25 x 40 x 45 cm, em galpão convencional de postura com cobertura de telhas de barro. O bebedouro utilizado foi do tipo calha com água corrente percorrendo toda a extensão frontal das gaiolas, lavado diariamente. O fornecimento de ração foi *ad libitum* às 8h:00m e 16h:00m, em comedouros dispostos sob os bebedouros um para cada unidade experimental.

O programa de iluminação adotado foi de 17 horas por dia (iluminação natural + artificial). Foi realizada a averiguação das condições térmicas do aviário por meio de termohigrômetro às 8h:00m e 16h:00m, obtendo-se os valores de temperatura média (30,6°C), mínima (24°C $\pm$ 0,8°C) e máxima (35,8°C $\pm$ 2,7°C), e umidade relativa do ar (83,8% $\pm$ 6%).

Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos, cinco repetições e seis aves por unidade experimental. Os tratamentos foram dispostos na seguinte forma: ração controle (RC - sem adição de carotenoides), RC com adição de astaxantina (AST) (10 mg.kg⁻¹), RC com adição de luteína (LUT) (10 mg.kg⁻¹), RC com adição de licopeno (LIC) (10 mg.kg⁻¹), RC com adição de astaxantina (AST) (10 mg.kg⁻¹) e luteína (LUT) (10 mg.kg⁻¹), RC com adição de astaxantina (AST) (10 mg.kg⁻¹) e licopeno (LIC) (10 mg.kg⁻¹), RC com adição de luteína (LUT) (10 mg.kg⁻¹) e licopeno (LIC) (10 mg.kg⁻¹), RC com adição de astaxantina (AST) (10 mg.kg⁻¹), luteína (LUT) (10 mg.kg⁻¹) e licopeno (LIC) (10 mg.kg⁻¹).

As rações experimentais foram baseadas em milho e farelo de soja e formuladas para serem isoenergéticas e isonutrientes (Tabela 1), de forma a atenderem as exigências

1108 nutricionais das aves segundo o Manual da linhagem (MANUAL, 2009) e Rostagno et al.
1109 (2017). Os carotenoides foram incorporados na ração em forma de pó.

1110

1111

1112

TABELA I
Composições percentual e calculada da ração controle*

Ingredientes	Controle
Milho, grão	62,00
Farelo de soja, 45%	22,91
Óleo de Soja	2,07
Calcário Calcítico	10,30
Fosfato Bicálcico	1,58
L- Lisina HCl, 99%	0,10
DL- Metionina, 99%	0,33
L- Treonina, 98%	0,06
Sal Comum	0,50
Suplemento mineral e vitamínico**	0,10
Total	100,00
Valores Calculados	
EM (Kcal/Kg)	2.900
PB (%)	15,61
Metionina + cisteína digestíveis (%)	0,76
Treonina digestível (%)	0,60
Lisina digestível (%)	0,78
Cálcio (%)	4,43
Fosforo disponível (%)	0,37
Sódio (%)	0,21

1113 *Cada carotenoide foi adicionado à ração controle na quantidade de 10 mg/ kg individualmente
1114 (Astaxantina - AST, Luteína - LUT, Licopeno - LIC) ou combinados (AST + LUT, AST + LIC, LUT +
1115 LIC e AST + LUT + LIC).

1116 **Composição por kg de ração: Vitamina A, 9.637 UI; Vitamina D3, 2.409 UI; Vitamina E, 36,1 UI;
1117 Vitamina K3, 1,93 mg; Vitamina B1, 2,59 mg; Vitamina B2, 6,44 mg; Ácido nicotínico, 39,2 mg; Ácido
1118 pantotênico, 12,95 mg; Vitamina B6, 3,614 mg; Vitamina B12, 0,0159 mg; Ácido fólico, 0,903 mg; Biotina,
1119 0,090 mg; Colina, 392 mg; Cu, 8,37 mg; Fe, 41,68 mg; I, 0,843 mg; Mn, 58,36 mg; Se, 0,250 mg; Zn, 54,21
1120 mg.

1121 O desempenho zootécnico foi avaliado por meio do consumo de ração (g/ave/dia),
1122 porcentagem de postura, massa dos ovos (g/ave) e conversão alimentar (kg/kg e kg/dz).

1123 Para avaliação da qualidade dos ovos, nos últimos quatro dias de cada ciclo foram
1124 selecionados seis ovos/ tratamento aleatoriamente para mensuração do peso médio (g) e
1125 gravidade específica (g/cm³). Destes, três ovos foram utilizados para avaliar a espessura
1126 de casca, porcentagens de casca, albúmen, gema e pH da gema e albúmen. Os ovos
1127 restantes foram utilizados para mensurar a Unidade Haugh, índice de gema (mm) e
1128 coloração de gema crua.

Com base nos dados de peso total e número de ovos da unidade experimental, obteve-se o peso médio dos ovos. Os ovos destinados à análise de composição e pH foram pesados e quebrados separadamente em recipientes de poliestireno atóxico, previamente identificados e pesados, havendo a separação total entre o albúmen, gema e casca. Cada constituinte foi pesado separadamente e calculado o seu percentual em relação ao peso do ovo, sendo dividido o peso do albúmen, da gema e da casca, pelo peso do ovo (g) e o resultado multiplicado por 100.

Em seguida, com um pHmetro de bancada (HANNA Instruments®) foi determinado o pH do albúmen e da gema.

Para a análise de qualidade, os ovos coletados foram pesados separadamente por meio de balança semi-analítica ($\pm 0,001\text{g}$) e posteriormente mergulhados em solução salina com diferentes densidades, variando de 1,070 a 1,098, para averiguação da gravidade específica. A técnica é baseada no princípio da flutuação, onde os ovos foram imersos em recipiente contendo soluções salinas em ordem crescente de densidade. Considerou-se a densidade do ovo aquela em que o mesmo flutuou.

Os ovos foram quebrados em superfície plana e lisa de vidro e com o auxílio de um paquímetro digital, as medidas de altura do albúmen e da gema foram determinadas e expressas em milímetros (mm). Por meio da medida da altura de albúmen (mm) e peso unitário do ovo (g), foram calculados os valores da unidade Haugh determinada pela equação descrita por Silversides e Budgell (2004): $UH = 100\log(H+7,75-1,7P^{0,37})$; Em que, H = altura do albúmen (mm) e P = peso do ovo (g).

Posteriormente, com um paquímetro digital ($\pm 0,05\text{ mm}$), foi mensurado o diâmetro da gema no sentido horizontal e, com base na média dos valores obtidos calculou-se o índice de gema (mm) (altura/diâmetro).

A análise de coloração da gema crua foi efetuada por meio de um leque colorimétrico DSM (Yolk Color Fan)®, numa escala de 1 a 15, variando respectivamente a tonalidade amarela de um tom claro até um amarelo escuro (tonalidade laranja).

Em seguida, as cascas foram lavadas e submetidas à secagem ambiente por 48 horas e pesadas para a determinação da qualidade externa, por meio do peso da casca (g) e espessura da casca (mm).

A espessura de casca, incluindo as membranas foi medida por meio da leitura de quatro pontos distintos da região equatorial utilizando micrômetro digital ($\pm 0,001\text{mm}$) e transformados em um valor médio por unidade experimental.

Para avaliação da qualidade e estabilidade oxidativa dos ovos armazenados adotou-se um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 8x3 (rações experimentais x período de armazenamento), com medidas repetidas no tempo, com 2 ovos/tratamento/dia. Para cada período de armazenamento foram selecionados dois ovos/tratamento/dia para a avaliação da qualidade interna por meio da unidade Haugh, índice de gema, coloração da gema, pH albúmen e da gema. As temperaturas de armazenamento foram: ambiente (25°C) e refrigerada (8°).

A mensuração da oxidação lipídica (método TBARS) foi executada segundo adaptação da metodologia descrita por Ramanathan e Das (1992) e Vyncke (1970), em três ovos/tratamento/dia em cada período de armazenamento.

Os dados foram submetidos à análise de normalidade Shapiro-Wilk. Para as variáveis cujos resíduos apresentaram distribuição normal, aplicou-se a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). Para a variável estabilidade oxidativa que não apresentou distribuição normal utilizou-se o método de modelos lineares generalizados e assumiu-se a distribuição *gamma* com função de ligação inversa e as médias comparadas pelo Teste T ($P<0,01$ e $P<0,05$). O programa estatístico utilizado para as análises estatísticas foi o *software* R (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009).

Resultados e Discussão

Não houve efeito ($P>0,05$) da inclusão de AST, LUT e LIC, associados ou não, nas rações sobre o desempenho zootécnico das poedeiras (Tabela 2)

TABELA II
Consumo de ração, conversão alimentar (kg/kg, kg/dz), porcentagem de postura e massa dos ovos de poedeiras brancas alimentadas com rações suplementadas com diferentes carotenoides

Variáveis	CR (g/ave/dia)	CA (kg/kg)	CA (kg/dz)	PP (%)	MO (g/ave)
Controle	105,21	1,80	1,43	90,57	60,06
Ast	104,91	1,78	1,41	88,97	58,59
Lut	104,24	1,79	1,43	89,32	59,35
Lic	103,04	1,85	1,49	82,73	55,00
Ast + Lut	105,22	1,86	1,45	86,93	56,87
Ast + Lic	104,96	1,81	1,43	90,34	59,02
Lut + Lic	108,00	1,87	1,51	87,45	58,65
Ast + Lut + Lic	105,46	1,92	1,52	87,67	56,79
Média	105,46	1,81	1,45	87,99	58,01
CV (%)	2,65	5,36	4,25	5,01	6,24
Valor de P	0,41	0,76	0,29	0,16	0,40

CR: Conversão alimentar; CA: Conversão alimentar; PP: Porcentagem de postura; MO: Massa de ovos.
 AST: Astaxantina; LUT: Luteína; LIC: Licopeno; AST + LUT: Astaxantina + Luteína; AST + LIC: Astaxantina + Licopeno; LUT + LIC: Luteína + Licopeno; AST + LUT + LIC: Astaxantina + Luteína + Licopeno.

Pesquisa realizada por Yang et al. (2006), utilizando AST nas dosagens de 0,7; 0,9, 1,1 e 1,3 ppm, não foram observadas diferenças significativas para as características de desempenho zootécnico, como produção dos ovos, conversão alimentar e consumo de ração. Lorenz (1999) e Ross et al. (1994), com farelo de alga *Hematococcus* ou *Spirulina* nas dietas não teve efeito adverso sobre a produção de ovos, conversão alimentar e taxa de postura.

Em trabalho realizado por Magnusen et al. (2018), utilizando quatro níveis de AST (10 a 80 mg/kg), verificaram que os níveis maiores que 40 mg/kg apresentaram diferenças quanto as características de desempenho, no entanto, o nível de 10 mg/kg não influenciou a produção dos ovos e o consumo de ração, conforme observado neste estudo.

Por outro lado, ao fornecerem LIC em combinação com minerais orgânicos, nas dosagens de 400 e 800 mg/kg, Garcia et al. (2015) relataram melhorias significativas para as características como produção de ovos, massa de ovos e consumo de ração, demonstrando que a utilização deste carotenoide em maiores dosagens, pode proporcionar resultados significativos em relação ao desempenho das aves.

Em estudo realizado por Leeson et al. (2007), testando luteína a 150 a 250 ppm na dieta de poedeiras, não foi observada diferenças significativas quanto ao consumo de ração, produção dos ovos para as aves alimentadas com diferentes níveis de luteína. Esse

resultado concorda com Leeson e Caston (2004), que relataram que o nível dietético de luteína não afetou a produção de ovos durante um período experimental de 8 semanas.

Para a maioria das variáveis relacionadas à qualidade dos ovos não foram observadas diferenças significativas em relação as dietas experimentais, exceto para a coloração da gema crua, em que o fornecimento de LIC, bem como das associações de AST e LUT, AST e LIC, LUT e LIC nas rações, proporcionou gemas mais pigmentadas, em comparação a ração controle (Tabela 3).

TABELA III
Peso do ovo, unidade Haugh, índice de gema, coloração de gema crua de ovos de poedeiras brancas alimentadas com rações suplementadas com diferentes carotenoides

Variaveis	PO (g)	UH	IG (mm)	CGC
Controle	66,15	94,36	0,411	5,56b
Ast	65,44	93,13	0,423	6,01ab
Lut	66,58	95,21	0,414	6,20ab
Lic	66,89	93,13	0,419	6,55a
Ast + Lut	65,59	94,85	0,427	6,51a
Ast + Lic	65,79	93,79	0,423	6,56a
Lut + Lic	67,40	93,58	0,415	6,33a
Ast + Lut + Lic	64,58	94,65	0,419	5,96ab
Média	66,05	94,08	0,418	6,21
CV (%)	2,59	2,04	4,03	5,43
Valor de P	0,25	0,54	0,81	P<0,05

PO: Peso do ovos; UH: Unidade Haugh; IG: Índice de gema; CGC: Coloração de gema crua; AST: Astaxantina; LUT: Luteína; LIC: Licopeno; AST + LUT: Astaxantina + Luteína; AST + LIC: Astaxantina + Licopeno; LUT + LIC: Luteína + Licopeno; AST + LUT + LIC: Astaxantina + Luteína + Licopeno. Letras distintas na coluna são significativas à 5% de probabilidade estabelecem distribuição normal teste de Shapiro Wilk.

Os dados deste trabalho estão de acordo com os apresentados por Herber e Van Elswyk (1996) que, avaliando a inclusão de 2,4% e 4,8% de alga marinha à dieta de poedeiras, como fonte de AST, não observaram efeitos significativos sobre a qualidade dos ovos.

A falta de efeito para as características de qualidade de ovos, concorda com o estudo de Yang et al. (2006), que utilizando AST em dosagens de 0, 0,7, 0,9, 1,1 e 1,3 ppm, não conferiu efeito significativo para o peso do ovo, a altura da gema e os valores de unidade Haugh. Os resultados obtidos neste trabalho também foram semelhantes aos encontrados por Ross e Dominy (1990) e Inborr (1998).

Garcia et al. (2015), ao adicionarem níveis superiores de LIC (400 e 800 mg/kg) as rações de poedeiras, também não observaram efeito para o peso do ovo e o índice de gema. Os resultados encontrados neste trabalho corroboram os relatados por Mabe et al. (2003), Chantiraticul et al. (2008) e Swiatkiewicz e Koreleski (2008).

Utilizando a luteína em 150 e 250 ppm, Leeson (2007) não observou diferenças significativas para os pesos do ovo e da gema. No entanto, concordando com os dados observados neste estudo, a coloração das gemas foi aumentada com a adição de 125 ppm de luteína às dietas e, segundo os autores, esse efeito foi associado ao aumento da concentração de luteína nos ovos.

Demonstrando o potencial pigmentante do licopeno sob a coloração da gema dos ovos, Olson et al. (2008) testaram sua utilização nas rações de poedeiras em doses de 65, 257 ou 650 mg.kg⁻¹, e a coloração das gemas foi significativamente maior que a cor das gemas dos ovos produzidos pelas aves que receberam a ração controle, sem adição de licopeno, conferindo o bom potencial de pigmentação deste carotenoide.

Avaliando a coloração das gemas, Magnusen et al. (2015) observaram que a suplementação da AST na concentração de 40 mg.kg⁻¹ alterou significativamente esta variável, aumentando os valores de coloração de 12 a 15, assim como os resultados encontrados neste trabalho para CGC. Além disso, este estudo demonstrou que a suplementação de astaxantina foi absorvida e posteriormente depositada em seus ovos, em relação a dose-dependentes, o que determina que maiores doses determinarão quantidades maiores de astaxantina absorvida. Ou seja para os tratamentos com doses maiores, mais pigmentadas foram as gemas.

Para as porcentagens de casca, albumen e gema, gravidade específica e espessura de casca, não foram verificados efeitos da inclusão dos diferentes carotenoides, associados ou não, nas rações das poedeiras.

TABELA IV
Porcentagens de casca, albumen e gema, gravidade específica e espessura de casca de ovos provenientes de poedeiras brancas alimentadas com rações suplementadas com diferentes carotenoides

Variaveis	Casca	Albumen (%)	Gema	GE (g/cm) ³	EC (mm)	PCSA (mg/cm ²)
Controle	8,91	73,99	24,85	1,083	0,322	75,28
Ast	8,82	73,67	25,09	1,082	0,321	78,05
Lut	8,67	73,75	25,28	1,083	0,325	75,48
Lic	8,46	73,87	25,27	1,083	0,327	75,44
Ast + Lut	8,97	73,37	25,16	1,082	0,319	74,82
Ast + Lic	8,76	73,14	25,58	1,083	0,325	75,72
Lut + Lic	8,63	73,00	25,86	1,083	0,324	75,91
Ast + Lut + Lic	8,80	72,88	26,24	1,083	0,316	75,78
Média	8,75	73,45	25,41	1,082	0,322	75,81
CV (%)	5,01	1,42	4,68	0,23	4,26	3,33
Valor de P*	0,67	0,58	0,65	0,99	0,93	0,64

GE: Gravidade específica; EC: Espessura de casca; PCSA: Porcentagem de casca por superfície de área; Letras distintas na coluna são significativas à 5% de probabilidade.

AST: Astaxantina; LUT: Luteína; LIC: Licopeno; AST + LUT: Astaxantina + Luteína; AST + LIC: Astaxantina + Licopeno; LUT + LIC: Luteína + Licopeno; AST + LUT + LIC: Astaxantina + Luteína + Licopeno.

Os resultados relacionados a qualidade externa dos ovos encontrados neste trabalho corroboram os encontrados por Spada et al. (2012) que, ao adicionarem urucum moído (1,0; 1,5 e 2,0%) e pigmentantes sintéticos (0,001% de *carophyll yellow* e 0,006% de *carophyll red*) na alimentação de poedeiras comerciais, não observaram efeitos para a gravidade específica dos ovos.

Em contrapartida, Magnusen et al. (2015) constaram maiores espessuras da casca dos ovos para as aves que receberam 40 mg/kg de suplementação de AST por 6 semanas. No entanto, Leeson et al. (2007) forneceram luteína nas dosagens de 150 e 250 ppm não observaram diferenças significativas em relação as características de qualidade externa dos ovos, como espessura de casca. Porém os autores explicam que quanto mais perto do período final de postura, a qualidade das cascas apresenta maiores deteriorações, este fato dificulta a evidência de efeitos relacionados as características de cascaa.

Portanto, a falta de efeito relacionado à qualidade externa dos ovos, pode ser explicada pelo fato que a qualidade externa dos ovos, medida por meio da espessura de casca, está diretamente relacionada à idade das aves. A diminuição da espessura de casca em galinhas velhas está relacionada com a menor atividade enzimática da anidrase carbônica, que pode estar associada ou não a menor absorção intestinal de cálcio,

1315 mobilização óssea e menor taxa de absorção deste mineral (MATEOS, 1991). Além disso,
1316 de modo geral, estes resultados quanto a qualidade externa eram esperados, pois os
1317 carotenoides desempenham funções biológicas nos tecidos animais.

1318 Quanto a qualidade e estabilidade oxidativa dos ovos armazenados em
1319 temperatura ambiente (25°C), não constatou-se efeito significativo da suplementação de
1320 carotenoides nas rações para o peso do ovo, unidade Haugh, índice de gema, pH de
1321 albumen e gema. No entanto, para a concentração de malonaldeído, observou-se maiores
1322 valores nas gemas dos ovos produzidos pelas aves que consumiram rações suplementadas
1323 com LIC em comparação àquelas produzidas pelas poedeiras que receberam ração
1324 controle e ração suplementada com AST (Tabela 5).

1325 As gemas cruas dos ovos oriundos das poedeiras que receberam as associações
1326 de AST e LUT, AST e LIC, e LUT e LIC nas rações mostraram-se mais pigmentadas,
1327 quando comparadas a combinação AST, LUT e LIC (Tabela 5).

1328 A menor pigmentação das gemas dos ovos provenientes das aves alimentadas
1329 com a associação de AST + LUT + LIC, se deve pela competição existente entre os
1330 carotenoides no momento da absorção. Ou seja, quando vários carotenoides mistos são
1331 depositados no trato intestinal juntos, os compostos competem pela formação de micelas
1332 e subsequente absorção intestinal (MAIANI et al., 2009)

1333 Portanto, os carotenoides também podem competir entre si durante a captação
1334 e metabolismo no enterócito e posterior incorporação no plasma (KOSTIC, WHITE &
1335 OLSEN, 1995). Essa interação competitiva pode impedir a absorção de carotenoides e o
1336 transportes até atingir as células finais (SALTER-VENZON et al., 2016).

1337 Dessa forma Reboul et al. (2007), demonstraram que uma mistura de
1338 carotenoides entre licopeno e β -caroteno, reduz significativamente a captação de luteína
1339 por células intestinais, esse teste foi um ensaio in vitro. A ingestão de doses iguais e
1340 combinadas de β -caroteno e luteína em humanos reduziu significativamente a resposta
1341 plasmática à luteína, em cerca de 40%, quando comparada com a ingestão de luteína
1342 isoladamente (Kostic et al., 1995).

1343 Outros pesquisadores observaram que a ingestão concomitante de luteína e β -
1344 caroteno em humanos reduziu significativamente o β -caroteno no plasma quando
1345 comparada à ingestão do β -caroteno isoladamente (van den Berg e van Vliet, 1998).
1346 Tyssandier et al. (2002) relataram que a absorção do licopeno, β -caroteno e luteína de um

vegetal é maior quando o alimento é administrado sozinho do que quando é coadministrado com outro alimento rico em carotenóides ou com o carotenóide puro.

A eficiência da pigmentação das gemas varia de forma dependente em relação a características como: absorção, transporte, taxa de deposição em outros tecidos, fontes dos carotenoides e misturas entre eles. Em poedeiras a deposição dos carotenóides nas gemas varia cerca de 14% para a astaxantina, 30-40% para a cantaxantina, 25% para a zeaxantina. No entanto, a deposição de xantofilas é rápida mas é necessário um período de cerca de 10 dias para obter uma cor uniforme da gema (MARUSICH e BAUERNFEIND, 1981).

TABELA V

Concentração de malonaldeído, peso do ovo, unidade Haugh, índice de gema, pH do albumen e gema, coloração de gema crua, de ovos armazenados por diferentes períodos de armazenamento em temperatura ambiente, provenientes de poedeiras brancas alimentadas com rações suplementadas com diferentes carotenoides

Variáveis	MDA (mg.kg ⁻¹)	PO (g)	UH	IG (mm)	pH		CGC
					Gema	Albumen	
Tratamentos (TRAT)							
Controle	0,174b	62,58	62,76	0,307	6,38	8,78	6,07ab
Ast	0,164b	59,54	54,91	0,280	6,42	8,91	6,40ab
Lut	0,194ab	61,86	59,58	0,305	6,19	8,82	6,25ab
Lic	0,262a	60,21	53,24	0,281	6,37	8,92	6,40ab
Ast + Lut	0,196ab	63,45	57,58	0,288	6,37	8,89	6,75a
Ast + Lic	0,198ab	61,18	58,56	0,285	6,45	8,95	6,69a
Lut + Lic	0,201ab	64,03	58,21	0,290	6,48	8,86	6,69a
Ast + Lut + Lic	0,228ab	59,71	57,70	0,298	6,31	8,91	5,84b
Período de armazenamento, dias (PA)							
Frescos	0,199a	66,15a	91,60a	0,414a	6,12b	8,00b	5,39c
15	0,201b	61,71b	44,93b	0,276b	6,24b	9,30a	6,54b
30	0,207b	58,22c	41,06b	0,217c	6,75a	9,33a	7,00a
Média	0,202	61,57	57,82	0,292	6,37	8,88	6,39
Valor de P*							
TRAT	0,03	0,38	0,29	0,11	0,82	0,77	0,32
PA	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
TRAT x PA	0,53	0,94	0,46	0,59	0,86	0,95	0,97

MDA: Concentração do malonaldeído; PO: Peso do ovo; UH: Unidade Haugh; IG: Índice de gema; pH: valores de pH da gema e do albumen; CGC: Coloração de gema crua; PA: Período de armazenamento; AST: Astaxantina; LUT: Luteína; LIC: Licopeno; AST + LUT: Astaxantina + Luteína; AST + LIC: Astaxantina + Licopeno; LUT + LIC: Luteína + Licopeno; AST + LUT + LIC: Astaxantina + Luteína + Licopeno. **Valores com P>0,05 apresentam distribuição normal pelo teste Shapiro Wilk; Letras distintas na coluna são significativas à 5% de probabilidade.

Os dados referentes a concentração de malonaldeído para gemas dos ovos armazenados em temperatura ambiente, foram diferentes entre os carotenoides estudados, com o maior valor obtido para as rações contendo somente LIC e os menores valores para as rações controle e contendo somente AST.

A superioridade da atividade antioxidante da astaxantina em relação a outras substâncias consideradas antioxidantes, foi estudada por Palozza et al. (2008) que ratificaram valores entre 100 e 500 vezes superiores aos outros carotenoides, como a luteína e o licopeno.

Outra possível explicação para as gemas dos ovos das aves que receberam a ração com suplementação de LIC, terem apresentado os maiores valores de MDA, se deve pelo fato do licopeno apresentar elevada instabilidade, sendo muito susceptível de oxidar ou isomerizar (Shi et al., 2002).

O principal sítio de remoção de radicais livres é o grupo hidroxila no átomo de carbono três no anel polar da molécula de astaxantina. Estudo descreve que a astaxantina possui efeito protetor contra danos oxidativos por oxigênio singlete e por radicais hidroxilas (LORENTZ et al., 2000).

O oxigênio nos anéis terminais e a presença de hidroxila (-OH) na estrutura química da astaxantina atribui maior polaridade a este carotenoide comparada aos demais. Com isso, esta estrutura se orienta de forma que os dois anéis fiquem localizados na superfície e a cadeia carbonada no interior da membrana (GOTO et al., 2001).

A absorção de licopeno ingerido na alimentação pode ser influenciada por diversos fatores como o preparo dos alimentos e as propriedades destes. Além destes fatores existem outros que também podem influenciar a quantidade de licopeno absorvido pelos organismos, como: quantidade de licopeno ingerido numa refeição, natureza da matriz do alimento em que o licopeno está inserido, forma e localização do licopeno na matriz, tipo de ligação molecular, interação com outros carotenóides e nutrientes, teores de xantofilas (Shi et al., 2002).

Embora o estudo tenha realizado em sistema *in vitro*, Stahl (1998), os efeitos sinérgicos podem estar relacionados a diferentes propriedades físico-químicas e/ou à localização nas biomembranas. De modo que, as xantofilas como a luteína abrange a membrana com grupos terminais ancorados em locais polares da membrana. Já o licopeno, faltando substituintes hidrofílicos, permanecem inteiramente dentro da

membrana. Portanto, orientações específicas dos carotenoides, podem fornecer dispositivos de proteção, que consigam propriedades sinérgicas.

As gemas cruas dos ovos das poedeiras alimentadas com a ração contendo a associação de AST, LUT e LIC apresentaram-se menos pigmentadas em comparação com àquelas produzidas pelas aves que receberam a associação de AST e LUT, AST e LIC, e LUT e LIC.

Em estudo realizado por Barbosa Filho (2004), foi determinado que a presença de agentes pigmentantes no alimento das aves determina maior coloração das gemas. Portanto, pode-se dizer que as combinações duplas dos carotenoides testados estabelecem compostos com boa capacidade pigmentante, uma vez que quando combinou-se os carotenoides, aumentou-se a quantidade na dieta.

Dados de Olson et al. (2008) demonstraram que poedeiras alimentadas com dietas contendo licopeno (420 mg/kg) depositaram eficientemente esse carotenoide nas gemas dos ovos, cuja concentração resultante foi de 4 mg/kg. Da mesma forma, o fornecimento de luteína (500 mg/kg) nas rações de poedeiras resultou em 2,2 mg luteína nos ovos (60g), bem como, a coloração das gemas apresentaram-se em pontuações maiores (LEESON & CASTON, 2004). Estes resultados demonstram boa incorporação da luteína à gema dos ovos e, conseqüentemente, boa capacidade pigmentante.

Conforme esperado, a qualidade dos ovos piorou ao longo de período de estocagem à temperatura ambiente. O peso do ovos diminuiu, possivelmente, devido a redução de água do albumen, de forma que sua proporção diminuiu linearmente em função do período de armazenamento, sendo mais evidente em ovos mantidos em temperatura ambiente (SANTOS et al., 2009).

Os valores de UH e IG reduziram, uma vez que, isto se deve principalmente, pois durante o armazenamento, a estocagem do ácido carbônico (H_2CO_3), um dos componentes do sistema tampão do albumen, dissocia-se resultando em água e gás carbônico. A quebra das ligações dos O-glicosídeos das cadeias de polipeptídeos da ovomucina resulta na perda parcial das propriedades de geleificação, além do que proporciona um meio mais fluído e redução da viscosidade do albúmen mais denso, influenciando diretamente na redução dos valores de unidade Haugh (SGARBIERI, 1996). Siebel e Souza Soares (2003) explicaram que a redução do índice de gema, ao aumentarem o período de armazenamento, é ocasionado pelo alargamento e, conseqüentemente, a redução da altura das gemas.

O pH da gema e do albumen aumentaram durante a estocagem dos ovos à temperatura ambiente. Possivelmente este fato se dá, em virtude das perdas de dióxido de

1437 carbono (CO₂) e umidade para o ambiente por meio dos poros da casca, e consequente
1438 dirolização das cadeias de aminoácidos presentes em seu sistema proteico constituído por
1439 fibras de ovomucina e proteínas globulares (STADELMAN COTTERILL, 1995).

1440 Com o aumento do período de armazenamento, a intensidade da coloração da
1441 gema crua diminuiu. Concordando com os resultados encontrados por Santos et al.,
1442 (2009), onde os ovos comerciais estocados durante 21 dias, independente da temperatura,
1443 apresentaram significativamente menor índice de coloração da gema crua, quando
1444 comparados aos ovos com 7 e 14 dias de armazenamento. Isto se deve principalmente
1445 pelo fato de que, os ovos das poedeiras, armazenados durante certo tempo realizam
1446 transferência rápida de ferro da gema para a clara, bem como a penetração de proteínas
1447 na gema, levando a coloração mais clara, isto também acontece em ovos armazenados a
1448 temperatura ambiente (SAUVEUR, 1993).

1449 Para os ovos armazenados em temperatura refrigerada (8°C), foram observadas
1450 diferenças significativas entre as rações experimentais, para as características de
1451 concentração de malonaldeído e coloração de gema crua.

1452 No entanto, para a concentração de malonaldeído, observou-se maiores valores
1453 nas gemas dos ovos produzidos pelas aves que consumiram rações suplementadas com
1454 LUT + LIC e AST + LUT + LIC em comparação àquelas produzidas pelas poedeiras que
1455 receberam ração controle e ração suplementada com AST (Tabela 6).

1456 As gemas cruas dos ovos oriundos das poedeiras que receberam as associações
1457 de AST e LUT, AST e LIC, e LUT e LIC nas rações mostraram-se mais pigmentadas,
1458 quando comparadas a combinação AST, LUT e LIC (Tabela 6).

1459 Para as variáveis de peso do ovo, unidade Haugh, índice de gema, pH de albumen
1460 e gema foram observadas diferenças significativas quanto aos períodos de
1461 armazenamento. Bem como também a variável coloração de gema crua apresentou
1462 diferença significativa quanto ao período de armazenamento (Tabela 6).

1463 As variáveis unidade Haugh, índice de gema e peso do ovo, apresentaram
1464 reduções, em relação aos maiores períodos de armazenamento. Quanto ao pH de
1465 albumene gema, foram observados, valores aumentados em relação aos maiores períodos
1466 de armazenamento.

1467
1468
1469
1470
1471

1472
1473
1474
1475
1476
1477

TABELA VI
Concentração de malonaldeído, peso do ovo, unidade Haugh, pH do albumen e gema, coloração de gema crua de ovos armazenados por diferentes períodos de armazenamento em temperatura refrigerada, provenientes de poedeiras brancas alimentadas com diferentes fontes de carotenoides

Variaveis	MDA (mg.kg ⁻¹)	PO (g)	UH	IG (mm)	pH		CGC
					Gema	Albumen	
TRAT							
Controle	0,146b	61,24	79,15	0,416	6,16	8,66	6,00bc
Ast	0,151b	65,39	80,27	0,416	6,30	8,76	6,30abc
Lut	0,189ab	59,99	81,40	0,413	6,22	8,79	6,08bc
Lic	0,228a	59,86	81,54	0,409	6,35	8,74	6,50ab
Ast + Lut	0,194ab	64,86	82,97	0,407	6,58	8,78	6,82a
Ast + Lic	0,206ab	63,95	80,05	0,405	6,10	8,80	6,72a
Lut + Lic	0,226a	65,56	80,29	0,404	6,28	8,69	6,81a
Ast + Lut + Lic	0,246a	62,88	84,73	0,404	6,60	8,73	5,79c
PA (dias)							
Frescos	0,194	66,15a	91,60a	0,421a	6,12b	8,00b	5,59b
15	0,197	63,85a	79,98c	0,411ab	6,30ab	9,06a	6,75a
30	0,204	59,99b	79,96b	0,395b	6,56a	9,17a	6,88a
Média	0,198	62,96	81,30	0,409	6,32	8,74	6,37
Valor de P*							
TRAT	0.04	0,13	0,48	0,86	0,19	0,88	0,19
PA	0,17	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
TRAT x PA	0,50	0,94	0,95	0,019	0,11	0,99	0,41

1478 MDA: Concentração do malonaldeído; PO: Peso do ovo; UH: Unidade Haugh; IG: Índice de gema; pH:
1479 valores de pH da gema e do albumen; CGC: Coloração de gema crua; PA: Período de armazenamento.
1480 AST: Astaxantina; LUT: Luteína; LIC: Licopeno; AST + LUT: Astaxantina + Luteína; AST + LIC:
1481 Astaxantina + Licopeno; LUT + LIC: Luteína + Licopeno; AST + LUT + LIC: Astaxantina + Luteína +
1482 Licopeno.*Valores com P>0,05 apresentam distribuição normal pelo teste Shapiro Wilk; Letras distintas
1483 na coluna são significativas à 5% de probabilidade.
1484

1485 A menor quantidade de malonaldeído para a ração contendo astaxantina, se deve
1486 principalmente pela estrutura química diferenciada em relação aos demais carotenoides,
1487 bem como também, devido a duas propriedades combinadas: o efeito impermeabilizador
1488 da membrana, responsável por limitar a entrada de agentes que promovam a
1489 lipoperoxidação no interior da membrana, além da ação antioxidante deste carotenóide
1490 (BARROS et al., 2001; Goto et al., 2001).

1491 Outro fato que poderia explicar estes resultados é que as atividades antioxidantes
1492 de carotenoides com estruturas químicas semelhantes ao β -caroteno, ou seja, o licopeno
1493 é dose-dependente, sua melhor atividade antioxidante ocorre altas concentrações.
1494 Portanto, quando encontrados em doses menores não ocorre o efeito inibitório e sim, o

efeito pro-oxidante, conforme descrito por Burton (1989). Estudos utilizando 400 mg/kg e 800 mg/kg de licopeno, doses 40 vezes maiores que a utilizada no presente trabalho, obtiveram diminuições para a concentração de malonaldeído (GARCIA et al., 2015).

Em estudo realizado por Magnusen et al. (2018), utilizando quatro níveis de astaxantina, variando entre 10 a 80 mg/kg, onde nem todos os níveis apresentaram diferenças quanto as características de desempenho e coloração dos ovos. Foram encontrados resultados em relação ao teor de astaxantina no plasma e no fígado. Portanto, isto torna-se indicativo da habilidade das galinhas em absorver, transportar e armazenar os fitoquímicos derivados das algas (fonte de astaxantina).

Sabe-se que os fitoquímicos lipofílicos são absorvidos da mesma forma que a vitamina E, de forma que são incorporados aos quilomícrons no intestino delgado e posteriormente, transportados por meio do sistema linfático para finalmente atingirem a circulação sistêmica. Uma vez que atinjam a circulação sistêmica, os fitoquímicos são trazidos para os diferentes tecidos e, particularmente para o fígado, onde podem ser armazenados ou transportados para fora. A astaxantina era aparentemente fisiologicamente inerte e pode não ser metabolizada pelos animais, ao contrário da maioria dos carotenoides, isto portanto determina que a retenção destes compostos nos tecidos é diferente.

Em pesquisa realizada por Hsu et al. (2015) avaliando a utilização de duas fontes de licopeno e cantaxantina na alimentação de codornas, não observaram diferenças significativas quanto as características de desempenho e qualidade dos ovos. Porém para as avaliações sanguíneas, demonstraram menores concentrações de MDA sanguíneo e maiores concentrações de enzimas como a catalase (CAT) e a superóxido desmutase (SOD), o que demonstra que os carotenoides nem sempre são incorporados diretamente às gemas dos ovos, para redução do MDA presente nas mesmas. Outras vias metabólicas podem atuar, carreando estes compostos a desempenharem outras funções biológicas não somente pigmentantes.

Outra vertente para explicar a falta de atividade antioxidante é que os carotenoides não são estáveis, e uma das maiores causas da perda da cor durante a estocagem é a oxidação dos mesmos, que é acelerada pela luz, temperatura e presença de catalisadores metálicos (SARANTÓPOULOS et al., 2001). Sua natureza não saturada os tornam susceptíveis à isomerização e oxidação resultando em perda de cor, que é mais pronunciada, seguida de oxidação (ESKIN, 1990).

As gemas cruas dos ovos das poedeiras alimentadas com a ração contendo a associação de AST, LUT e LIC apresentaram-se menos pigmentadas em comparação com àquelas produzidas pelas aves que receberam a associação de AST e LUT, AST e LIC, e LUT e LIC.

Os resultados encontrados em relação a coloração das gemas, demonstraram que as combinações de AST e LUT, AST e LIC, e LUT e LIC, a presença da xantofila luteína, determina valores pigmentantes mais altos, fato que pode ser explicado pelo fato de que as aves, absorvem em geral, principalmente as xantofilas, que são conhecidas como oxicarotenoides, presentes nas dietas (HENCKEN, 1992; HUDON, 1994).

Em poedeiras, os estoques de oxicarotenoides dos músculos e da pele são transferidos para os ovários quando as aves atingem a maturidade sexual, sendo parte deles eliminados na gema dos ovos, que determina sua cor (GOODWIN, 1986). De modo geral, os animais podem absorver, transformar e depositar os carotenoides ingeridos em vários de seus tecidos como por exemplo, pele, bico, patas e gemas (BREITHAUP, 2007).

Estudo realizado por Englmaierová et al., (2013), a adição de luteína na dose de 250 mg/kg aumentou significativamente a coloração das gemas, ao contrário do tratamento controle, sem o carotenoide. Portanto demonstram capacidade pigmentante deste composto.

Demonstrando o potencial pigmentante da utilização de astaxantina na alimentação de poedeiras, Elwinger et al. (1997), observaram acréscimo da pigmentação das gemas dos ovos variando de 5,8 a 11,8, respectivamente nas variações de 0,5 a 3,0 ppm de astaxantina. Lee et al. (1999) encontraram que a astaxantina produziu um incremento linear no ovo alimentados com coloração de gema, em comparação com ovos de camadas dieta livre de astaxantina. Era um relatório da Mammershøj (1995) também de acordo com nossos resultados, onde eles alimentados astaxantina para camadas, resultando em um incremento significativo de cor de ovo.

Conforme esperado, a qualidade dos ovos piorou ao longo de período de estocagem à temperatura refrigerada. Contudo, a perda de qualidade se dá de forma mais acentuada, de acordo com Lana (2000), os ovos não mantidos em melhor estado de conservação quando estocados em temperaturas de (10 a 15 °C). Segundo Frazier (1976) e Pombo (2003), a perda de água nos ovos realiza-se por evaporação e varia em função

do período de estocagem, temperatura ambiente, umidade relativa do ar e porosidade da casca.

As características de peso do ovo, unidade Haugh apresentaram redução nos valores conforme o período de armazenamento aumentou. Esses resultados eram esperados, pois em estudos avaliando os efeitos do clima tropical sobre o período de armazenamento de ovos estocados em temperatura ambiente, demonstraram que os valores de UH diminuem de forma acentuada quando armazenados em temperatura refrigerada e os valores de pH do albumen e da gema aumentam, em virtude da perda de dióxido de carbono através dos poros da casca (XAVIER et al., 2008).

No entanto, estudo realizado por Jones et al., (2002) demonstrou que o tempo e a temperatura são fatores importantes e que devem ser controlados durante o período de armazenamento, ou seja, quanto maior a temperatura e o tempo de armazenamento pior a qualidade interna dos ovos, que é indicada principalmente pelos valores de unidade Haugh.

Neste sentido, pesquisas realizados por Cruz & Mota (1996) e Leandro et al. (2005), demonstraram que a redução da qualidade interna dos ovos está associada, principalmente, à perda de água e de dióxido de carbono durante o período de estocagem e é proporcional ao aumento da temperatura de estocagem. Este fato acelera as reações físico-químicas ocasionando a degradação da estrutura da proteína presente na albumina, tendo como produto das reações a água ligada a grandes moléculas de proteínas que passam para a gema por osmose.

O fato do pH da gema ter aumentado, conforme prolongou-se o período de armazenamento, corrobora com a afirmação feita por SHANG et al. (2004) de que durante a armazenagem sob refrigeração, os íons alcalinos, como potássio, sódio e magnésio migram do albúmen para a gema, sendo assim trocados pelos íons hidrogênio, provocando assim aumento do pH da gema.

Com o aumento do período de armazenamento, os valores foram aumentados aos 30 dias para pH de albumen. Este fato é causado pela perda de CO₂, em virtude do aumento dos poros da casca (Li-Chan et al., 1995). Neste sentido e concordando com os dados encontrados na presente pesquisa Alleoni & Antunes, em condições de refrigeração ocorreu menor perda de dióxido de carbon, com consequente aparente estabilidade do pH, observou-se também, que ao mesmo tempo que o pH do albumen aumentou, ocorreu diminuição do escore da unidade Haugh.

Os índices de gemas oriundos das poedeiras que receberam as rações controle, AST e LUT, AST e LIC, mostraram redução mais acentuada em relação aos períodos de armazenamento. A interação está descrita na tabela 7.

TABELA VII
Índice de gema de ovos de poedeiras brancas alimentadas com diferentes fontes de carotenoides armazenados por até 30 dias em temperatura refrigerada

TRAT	PA (dias)		
	Frescos	15	30
Controle	0,448a	0,400b	0,393b
Ast	0,411	0,397	0,402
Lut	0,421	0,411	0,413
Lic	0,423	0,410	0,383
Ast + Lut	0,449a	0,399b	0,373b
Ast + Lic	0,442a	0,393b	0,391b
Lut + Lic	0,406	0,421	0,384
Ast + Lut + Lic	0,431	0,409	0,404
Média	0,411	0,392	0,422

TRAT: Tratamentos; PA: Período de armazenamento; AST: Astaxantina; LUT: Luteína; LIC: Licopeno; AST + LUT: Astaxantina + Luteína; AST + LIC: Astaxantina + Licopeno; LUT + LIC: Luteína + Licopeno; AST + LUT + LIC: Astaxantina + Luteína + Licopeno.

Letras distintas nas linhas são significativas à 5% de probabilidade.

A diminuição progressiva que ocorre dos valores de IG durante os períodos de armazenamento é explicada pelo enfraquecimento gradual que ocorre na membrana vitelina e a liquefação da gema, a qual é causada, principalmente, por difusão de água do albumen (AKYURES e OKUR, 2009).

Pelo fato de o índice de gema ser baseado na relação entre a altura e o diâmetro da gema, o aumento da temperatura de conservação pode influenciar negativamente sobre essa variável conforme observado nesse experimento. Os ovos armazenados até seis dias após a postura se mantêm em padrão de alta qualidade em temperatura ambiente (26,5°C); e quando armazenados em refrigeração (7,3°C) mantêm padrão de excelente qualidade até os 30 dias, garantindo ao consumidor um produto saudável (LANA et al., 2017). Portanto este fato, comprova que apesar de os índices de gema reduzirem, conforme o períodos de armazenamento aumenta, porém ovos mantidos sob refrigeração conseguem ser mantidos com índices de gemas consideravelmente mais estáveis.

Os valores de índice de gema, segundo Santos (2008), está na faixa entre 0,35 a 0,49, entretanto, todos os ovos analisados aos 15 e 30 dias. O IG pode ser recomendado

como melhor variável a ser medida a qualidade dos ovos, quando comparados a UH e pH, pois estas variáveis não mensuram fielmente a qualidade (SPADA et al., 2012).

São escassas as pesquisas com a inclusão dos dois antioxidantes na dieta de poedeiras, contudo, no presente estudo a associação da astaxantina e da luteína, bem como a associação da astaxantina e do licopeno, apresentaram uma considerável estabilização dos valores de índice de gema.

Conclusão

Conclui-se que a inclusão de astaxantina (10 mg.kg⁻¹), luteína 10 mg.kg⁻¹ e licopeno 10 mg.kg⁻¹, combinados ou não, nas rações de poedeiras comerciais brancas não influenciam o desempenho zootécnico e a qualidade dos ovos.

Os dados de oxidação lipídica (MDA) indicam que os ovos tem melhor estabilidade oxidativa quando as poedeiras são alimentadas com rações baseadas em milho e farelo de soja suplementadas com astaxantina (10 mg.kg⁻¹, em comparação à adição do licopeno (10 mg.kg⁻¹).

A associação de AST e LUT, AST e LIC e LUT e LIC nas rações de poedeiras proporciona a produção de ovos com gemas mais pigmentadas, no entanto, a combinação da AST, LUT e LIC desencadeia menor capacidade pigmentante.

O armazenamento dos ovos por até 30 dias, tanto em temperatura ambiente como sob refrigeração, prejudica a qualidade interna dos ovos de poedeiras comerciais brancas.

Vários fatores, como estrutura química, estabilidade da molécula, competição entre os carotenoides influenciam na absorção e incorporação dos mesmos, às gemas.

Considerações Finais

É necessário que novas pesquisas sejam realizadas, afim de que os efeitos sinérgicos entre a AST, LUT e LIC sejam esclarecidos. Bem como, os reais fatores que influenciam a biodisponibilidade, estabilidade e absorção da AST, LUT e LIC, sejam esclarecidos.

Referências bibliográficas

AKYUREK, H AND OKUR, AG. 2009. Effect of storage time, temperature and hen age on egg quality in freerange layer hens. Journal of Animal and Veterinary, v. 8, n. 10, p. 1953-1958.

- 1653 ALLEONI, ACC AND ANTUNES, AJ. 2001. Haugh unit as a measure of the
1654 quality of hen eggs stored under refrigeration. *Scientia Agrícola*, Piracicaba,
1655 v.58, p.681-685.
1656
- 1657 BARBOSA FILHO JAD. 2004. Avaliação do bem-estar de aves poedeiras em
1658 diferentes sistemas de produção e condições ambientais, utilizando análise de
1659 imagem. 123 p. Dissertação de Mestrado. ESALQ/USP. Brasil.
1660 BARREIROS, AL, DAVID, JM, DAVID, JP. 2006. Estresse oxidativo: relação
1661 entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v. 29,
1662 n. 1, p. 113-123.
1663
- 1664 BARROS,MP,PINTO, E, COLEPICOLO, P, PEDERSEN, M. 2001.Astaxanthin
1665 and peridinin inhibit oxidative damage in Fe(2+)-loaded liposomes: scavenging
1666 oxyradicals or changing membrane permeability *Biochemical and Biophysical*
1667 *Research Communications*, 288 pp. 225-232
- 1668 BREITHAUPT, DE. 2007. Modern Application of xanthophylls in animal
1669 feeding: a review.*Trends in Food Science and Technology*, v.18, p.501 –506.
- 1670 BURTON, GW. 1989 Antioxidant action of carotenoids. *J Nutr* 119:109-111
1671
- 1672 CARVALHO, FB. et al. 2007. Qualidade interna e de casca para ovos de
1673 poedeiras comerciais de diferentes linhagens e idades. *Ciência Animal*
1674 *Brasileira*, Goiânia, v. 8, n. 1, p. 25-29.
1675
- 1676 CHANTIRATICUL, A, CHINRASRI, O, CHANTIRATIKUL, P. 2008. Effect
1677 of sodium selenite and zinc-L-selenomethionine on performance and selenium
1678 concentrations in eggs of laying hens. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, v.21, p.1048,
1679 2008.
1680
- 1681 CRUZ, FGG AND MOTA, M. O.S. 1996. Efeito da temperatura e do período de
1682 armazenamento sobre a qualidade interna dos ovos comerciais em clima tropical
1683 úmido. In: CONFERÊNCIA APINCO'96 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
1684 AVÍCOLA, 1996, FACTA, Campinas, SP. Anais... Campinas: Facta. p. 96.
1685 egg quality. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 44, 138–143
- 1686 ELWINGER, K, LIGNELL,A AND WILHELMSON, M. 1997. Astaxanthin
1687 rich algal meal (*Haematococcus pluvialis*) as carotenoid source in feed for laying
1688 hens. In, *Proceedings of the VII European Symposium on the Quality of Eggs*
1689 *and Egg Products*. Poznan, Poland. 52-59.
- 1690 ENGLMAIEROVA, M, SKRIVAN M. 2013. Effects of synthetic carotenoids,
1691 lutein, and mustard on the performance and egg quality. *Scientia Agriculturae*
1692 *Bohemica*, 44, 138-143.
- 1693 ESKIN, MNA. 1990. Biochemical changes in raw foods: fruits and vegetables.
1694 In: *Biochemistry of food*. 2. ed. San Diego: Academic, part 1, p. 69-145.
- 1695 FRAZIER, WC. 1976. *Microbiologia de los alimentos*. 2.ed. Espanha: Acribia.
1696 p.305.

- 1697 GARCIA, ERM, CRUZ, FK, KIEFER C. et al. 2015. Minerais orgânicos e
1698 licopeno na alimentação de poedeiras: desempenho zootécnico e qualidade dos
1699 ovos *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.67, n.6, p.1703-1710.
- 1700 GOODWIN, TW. 1986. Metabolism, nutrition and function of carotenoids.
1701 *Annual Review of Nutrition*, v.6, p.273-297.
- 1702 GOTO, S et al. 2001 Efficient radical trapping at the surface and inside the
1703 phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity
1704 of the carotenoid astaxanthin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1512: 251-258
- 1705 HAYAT Z, CHERIAN G, PASHA TN, KHATTAK FM, JABBAR MA. 2010.
1706 Oxidative stability and lipid components of eggs from flax-fed hens: Effect of
1707 dietary antioxidants and storage. *Poultry Science*.89(6):1285–1292. 16.
- 1708 HENCKEN, H. 1992. Chemical and physiological behavior of feed carotenoids
1709 and their effects on pigmentation. *Poultry Science*, v.71, p.711-717.
- 1710 HERBER SM, VAN ELSWYK ME. 1996. Dietary marine algae promotes
1711 efficient deposition of n-3 fatty acids for the production of enriched shell eggs.
1712 *Poult Sci* 75:1501–1507.
- 1713 HSU, YJ, CHIU, CC, LI, YP, HUANG, WC, HUANG, YT, HUANG
1714 CC, CHUAN, G HL 2015. Effect of intestinal microbiota on exercise
1715 performance in mice. *J Strength Cond Res.* Feb;29(2):552-8.
- 1716 HUDON, J. 1994. Biotechnological applications of research on animal
1717 pigmentation. *Biotechnology Advances*, v. 12, p.49-69.
- 1718 INBORR, J. 1998. Haematococcus, the Poultry Pigmentor. *Feed Mix*, 6:31-34.
1719 intrinsic antioxidant systems of layer hens exposed to heat stress. *Algal Research*
1720 84–90 2211-9264 Elsevier B.V. All rights reserved.
- 1721 JONES, DR, THARRINGTON, JB, CURTIS, PA, ANDERSON, KE, KEENER,
1722 KM, JONES, FT. 2002. Effects of cryogenic cooling of shell eggs on egg
1723 quality. *Poultry Science*, v.81, n.5, p.727-733.
- 1724 KOSTIC, D, WHITE, WS, OLSEN, JA. 1995. Intestinal absorption, serum
1725 clearance, and interactions between lutein and B-carotene when administered to
1726 human adults in separate or combined oral doses. *American Journal of Clinical*
1727 *Nutrition*, 62, 604–610.
- 1728 LANA, GRQ. 2000. *Avicultura*. Campinas: Livraria e Editora Rural, SP. 251p.
- 1729 LANA, SRV, LANA, GRQ, SILVA, LCL, SALVADOR, EL, LEÃO, APA.,
1730 LANA, AMQ, BARROS JR, RF. 2018. Efeito da temperatura e período de
1731 armazenamento sobre a qualidade de ovos de poedeiras. *Archivos de*
1732 *zootecnia*, 67(257), 93-98.

- 1733 LEANDRO, NSM, DEUS, HAB, STRINGHINI, JH, CAFÉ, MB, ANDRADE,
1734 MA, CARVALHO, FB. 2005. Aspectos de qualidade interna e externa de ovos
1735 comercializados em diferentes estabelecimentos na região de Goiânia. *Ciência*
1736 *Animal Brasileira*, v.6, n.2, p.71-78.
- 1737 LEE, KS, MEYERS, SP AND HEBERT, JA. 1999. Evaluation of crawfish
1738 astaxanthin as a natural red pigment of egg yolk. *SPSS Abstr.* 177-178.
- 1739 LEESON, S AND SUMMERS, JD. 2005 *Commercial Poultry Nutrition – 3^a ed.*,
1740 University of Guelph, Univ. Books, ISBN 0-9695600-5-2 Guelph, Ontário,
1741 Canada.
- 1742
1743 LEESON, S, CASTON, L, NAMKUNG, H. 2007. Effect of dietary lutein and
1744 flax on performance, egg composition and liver status of laying hens. *Canadian*
1745 *Journal of Animal Science*, 87, 365–372.
- 1746 LI-CHAN, E, POWRIE, WD, NAKAI, S, 1995 The chemistry of eggs and egg
1747 products. In: Stadelman WJ, Cotterill OJ (eds) *Egg Science and Technology*, 4th
1748 edn. New York: Food Products Press, pp. 109–160.
- 1749 LORENZ, RT AND CYSEWSKI, GR. 2000. Commercial potential for
1750 *Haematococcus microalgae* as a natural source of astaxanthin. *TIBTECH*, v. 18,
1751 p. 160-167.
- 1752
1753 LORENZ, RT. 1999. A review of *Spirulina* and *Haematococcus* algae meal as a
1754 carotenoid and vitamin supplement for poultry. *Spirulina Pacifica Technical*
1755 *Bulletin*. 053:1-14.
- 1756 MABE, I, RAPP, C, BRAIN, MM. et al. 2003. Supplementation of a corn-
1757 soybean diet of manganese, copper, and zinc from organic and inorganic sources
1758 improves eggshell quality in aged laying hens. *Poult. Sci.*, v.82, p.1903-1913,
1759 2003.
- 1760
1761 MAGNUSON, AD, SUNA, T, YINA, R, LIUA, G, TOLBAA, S, SHINDEB,
1762 SXG. 2018. Supplemental microalgal astaxanthin produced coordinated changes
1763 in
- 1764
1765 MAIANI, G, CASTON, MJP, CATASTA, G, TOTI, E, CAMBRODON, IG, -
1766 BYSTED, A, SCHLEMMER, U. 2009. Carotenoids: Actual knowledge of food
1767 sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans.
Molecular Nutrition & Food Research, 53, S194–S218.
- 1768
1769 MAMMERSHOJ, M. 1995. Effects of dietary fish oil with natural content of
1770 carotenoids on fatty acid composition, n-3 fatty acid content, yolk color and egg
quality of hen eggs. *Archiv für Geflügelkunde*, 59:189-197.
- 1771
1772 MANUAL de manejo das poedeiras *Dekalb White*. 2009 Uberlândia: Granja
1773 Planalto. 39p.

- 1774 MARTINEZ-TOME, M. et al. 2001 Antioxidant properties of Mediterranean
1775 spices compared with common food additives. *Journal of Food Protection*, Des
1776 Moines, v. 64, n. 9, p. 1412-1419.
1777
- 1778 MARUSICH, WL, BAUERNFEIND, JC. 1981. Oxycarotenoids in poultry
1779 feeds. In: BAUERNFEIND, J.C. (Ed.) *Carotenoids as colorants and vitamin A*
1780 *precursors: Technological and nutritional applications*. New York: Academic
1781 Press, p.319-462.
1782
- 1783 MATEOS, GG. 1991. *Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras*. Madrid:
1784 Ediciones Mundi-Prensa, Editorial Aedos, p. 227-262.
- 1785 MORAIS, FL. 2006. Carotenóides - características biológicas e químicas. Tese
1786 (Doutorado) — Universidade de Brasília.
- 1787 MORENG, RE, AVENS, JS, 1990. *Ciência e produção de aves*. São Paulo:
1788 Roca.
- 1789 OLSON, JB, WARD, NE, KOUTSOS, EA. 2008. Lycopene incorporation into
1790 egg yolk and effects on laying hen immune function. *Poultry Sci.*, v.87, p.2573–
1791 2580.
1792
- 1793 PALOZZA, P, BARONE, E, MANCUSO, C. 2008. The protective role of
1794 carotenoids against 7-keto-cholesterol formation in solution. *Mol. Cell. Bioch.*
1795 309, 61-68.
1796
- 1797 PASHKOW, FJ, WATUMULL, DG, CAMPBELL, CL. 2008. Astaxanthin: a
1798 novel potential treatment for oxidative stress and inflammation in cardiovascular
1799 disease. *Am. J. Cardiol.*, v. 101, p. 58D-68D.
1800
- 1801 PITA, MCG, PIBER NETO, E, NAKAOKA, LM, MENDONÇA JR, CX. 2004.
1802 Efeito da adição de ácidos graxos insaturados e de vitamina E à dieta de galinhas
1803 e seu reflexo na composição lipídica e incorporação de alfa-tocoferol na gema
1804 do ovo. *Brazilian journal of Veterinary Research and Animal Science*, São
1805 Paulo, v. 41, n. 1, p. 25 – 31.
- 1806 POMBO, CR. 2003. Efeito do tratamento térmico de ovos inteiros na perda de
1807 peso e características de qualidade interna. 74f. Dissertação (Mestrado em
1808 Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio
1809 de Janeiro.
- 1810 REBOUL E, THAP S, TOURNIAIRE F, ANDRÈ M, JUHEL C, MORANGE S,
1811 AMIOT MJ, LAIRON D, BOREL P. 2007. Differential effect of dietary
1812 antioxidant classes (carotenoids, polyphenols, vitamins C and E) on lutein
1813 absorption. *Br J Nutr* 97: 440-446.
- 1814 ROSS, E. AND DOMINY, W. 1990. The nutritional value of dehydrated, blue-
1815 green algae (*Spirulina platensis*) for poultry. *Poult. Sci.* 69:794-800.
1816

- 1817 ROSS, E., D. P. PUAPONG, F. P. CEPEDA AND P. H. PATTERSON. 1994.
1818 Comparison of freeze-dried and extruded *Spirulina platensis* as yolk pigmenting
1819 agents. *Poult. Sci.* 73:1282.
- 1820 ROSTAGNO, HS, ALBINO, LFT, DONZELLE, JL et al. 2017. *Tabelas*
1821 *brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências*
1822 *nutricionais*. 2.ed. Viçosa: UFV, 186p.
- 1823 SALTER-VENZON, D, KAZLOVA, V, IZZY FORD, S, INTRA, J,
1824 KLOSNER, AE, GELLENBECK, KW. 2016. Evidence for decreased
1825 interaction and improved carotenoid bioavailability by sequential delivery of a
1826 supplement. *Food Science & Nutrition*, 5(3), 424–433.
- 1827 SANTOS, MSV, ESPÍNDOLA, GB, LÔBO, RNB, FREITAS, ER, GUERRA,
1828 JLL, SANTOS, ABE. 2009. Efeito da temperatura e estocagem em ovos.
1829 *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.29, n.3, p.513-517.
- 1830 SARANTÓPOULOS, CIGL, OLIVEIRA, LM, CANAVESI, E. 2001.
1831 Requisitos de Conservação de Alimentos em Embalagens Flexíveis. Campinas:
1832 CETEA/ITAL, 215 p.
- 1833 SAUVEUR, B. 1993. El huevo para consumo: bases productivas. Tradução por
1834 Carlos Buxadé Carbó. Barcelona: Aedos Editorial, 377p.
- 1835 SGRBIERI, VC. 1996. Proteínas em alimentos proteicos. 1 ed. São Paulo:
1836 Varela, p 517.
- 1837 SHANG, X.G.; WANG, F.L.; LI, D.F.; YIN, D.J.; LI, J.Y. Effects of dietary
1838 conjugated linoleic acid on the productivity of laying hens and egg quality
1839 during refrigerated storage. *Poultry Science*, v.83, n.10, p.1688-1695, 2004.
- 1840 SHI, J.; LE MAGUER, M. e BRYAN, M. (2002) – Lycopene from Tomatoes. In
1841 SHI, J.; LE MAGUER, M. e MAZZA, G. (Ed.) – Functional Foods:
1842 Biochemical and Processing Aspects, Volume 2, Functional Foods and
1843 Nutraceuticals Series, CRC Press. cap. 4, pp.135 – 163.
- 1844 SIEBEL NF, SOUZA-SOARES LA. 2003. Avaliação física de ovos de codornas
1845 em diferentes períodos de armazenamento. *Vetor*. 13:47-52.
- 1846
1847 SOUTHON, S. 2000. Increased fruit and vegetable consumption within the EU:
1848 potential health benefits. *Food Research International*. v 33, p.211-227.
1849
- 1850 SPADA, FP. et al., 2012. Adição de carotenóides naturais e artificiais na
1851 alimentação de galinhas poedeiras: efeitos na qualidade de ovos frescos e
1852 armazenados. *Ciência Rural*, v.42, n.2.
- 1853
1854 STADELMAN, WJ AND COTTERILL, OJ. 1986. (Eds.). *Egg science and*
1855 *technology*, 3rd edn. AVI Publishing, Westport, pp 141–163.

- 1856 STAHL, SM. 1998 Selecting an antidepressant by using mechanism of action to
1857 enhance efficacy and avoid side effects. *J Clin Psychiatry*;59(suppl 18):23-29.
- 1858 SWIATKIEWICZ, S, KORELESKI, J. 2008. The effect of zinc and manganese
1859 source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. *Vet. Med-Czech*,
1860 v.53, p.555-563.
- 1861 TYSSANDIER, V, CARDINAULT, N, CARIS-VEYRAT, C, AMIOT, MJ,
1862 GROLIER, P, BOUTELOUP, C., AZAIS-BRAESCO, V, BOREL, P. 2002.
1863 Vegetable-borne lutein, lycopene, and β -carotene compete for incorporation into
1864 chylomicrons, with no adverse effect on the medium-term (3-wk) plasma status
1865 of carotenoids in humans. *Am J Clin Nutr* 75: 526-534.
- 1866 VAN DEN BERG, H AND VAN VLIET, T. 1998. Effect of simultaneous,
1867 single oral doses of betacarotene with lutein or lycopene on the beta-carotene
1868 and retinyl ester responses in the triacylglycerol-rich lipoprotein fraction of men.
1869 *Am J Clin Nutr* 68: 82-89.
- 1870 VIANA, MTS, ALBINO, LFT, ROSTAGNO, HS, SILVA, EA, MESSIAS,
1871 RKG, PEREIRA, JPL. 2009. Efeito do uso de enzimas sobre o desempenho e
1872 metabolismo de poedeiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.6, p.1068-
1873 1073.
- 1874 XAVIER, IMC et al. 2008. Quality of consume eggs submitted to different
1875 storage conditions. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*,
1876 v.60, p.953-959.
- 1877
1878 YANG, YX, KIM, YJ, JIN, Z, LOHAKARE, JD, KIM, CH, LEE,
1879 SH, et al. 2006. Effects of dietary supplementation of astaxanthin on production
1880 performance, egg quality in layers and meat quality in finishing pigs. *Asian-
1881 Australian Journal of Animal Science* 19, 1019–1025.
- 1882
1883
1884
1885
1886
1887
1888
1889
1890
1891
1892
1893
1894
1895
1896
1897

ANEXO

Normas para publicações nos ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Objetivo e política editorial

A revista **ANALIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS**

encoraja fortemente as submissões online. Uma vez o artigo preparado de acordo com as instruções abaixo, visite o site de submissão online (<http://aabc.abc.org.br>).

As instruções devem ser lidas cuidadosamente e seguidas integralmente. Desta forma, a avaliação e publicação de seu artigo poderão ser feitas com mais eficiência e rapidez. Os editores reservam-se o direito de devolver artigos que não estejam de acordo com estas instruções. Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

OBJETIVO E POLÍTICA EDITORIAL

Todos os artigos submetidos devem conter pesquisa original e ainda não publicada ou submetida para publicação. O primeiro critério para aceitação é a qualidade científica. O uso excessivo de abreviaturas ou jargões deve ser evitado, e os artigos devem ser compreensíveis para uma audiência tão vasta quanto possível. Atenção especial deve ser dada ao Abstract, Introdução e Discussão, que devem nitidamente chamar a atenção para a novidade e importância dos dados relatados. A não observância desta recomendação poderá resultar em demora na publicação ou na recusa do artigo.

Os textos podem ser publicados como uma revisão, um artigo ou como uma breve comunicação. A revista é trimestral, sendo publicada nos meses de março, junho, setembro e dezembro.

TIPOS DE TRABALHOS

Revisões. Revisões são publicadas somente a convite. Entretanto, uma revisão pode ser submetida na forma de breve carta ao Editor a

1943	qualquer tempo. A carta deve informar os tópicos
1944	e autores da revisão proposta e declarar a razão
1945	do interesse particular do assunto para a área.
1946	Artigos. Sempre que possível, os artigos devem
1947	ser subdivididos nas seguintes partes: 1. Página
1948	de rosto; 2. Abstract (escrito em página separada,
1949	200 palavras ou menos, sem abreviações); 3.
1950	Introdução; 4. Materiais e Métodos; 5. Resultados;
1951	6. Discussão; 7. Agradecimentos quando
1952	necessário; 8. Resumo e palavras-chave (em
1953	português - os autores estrangeiros receberão
1954	assistência); 9. Referências. Artigos de algumas
1955	áreas, como Ciências Matemáticas, devem
1956	observar seu formato usual. Em certos casos pode
1957	ser aconselhável omitir a parte
1958	(4) e reunir as partes (5) e (6). Onde se aplicar, a
1959	parte de Materiais e Métodos deve indicar o Comitê
1960	de Ética que avaliou os procedimentos para
1961	estudos em humanos ou as normas seguidas para
1962	a manutenção e os tratamentos experimentais em
1963	animais.
1964	<u>Breves comunicações</u>
1965	Breves comunicações devem ser enviadas em
1966	espaço duplo. Depois da aprovação não serão
1967	permitidas alterações no artigo, a fim de que
1968	somente correções de erros tipográficos sejam
1969	feitos nas provas.
1970	Os autores devem enviar seus artigos somente em versão
1971	eletrônica.
1972	Preparação de originais
1973	
1974	PREPARO DOS ARTIGOS
1975	Os artigos devem ser preparados em espaço
1976	duplo. Depois de aceitos nenhuma modificação
1977	será realizada, para que nas provas haja
1978	somente correção de erros tipográficos.
1979	Tamanho dos artigos. Embora os artigos possam
1980	ter o tamanho necessário para a apresentação
1981	concisa e discussão dos dados, artigos sucintos e
1982	cuidadosamente preparados têm preferência
1983	tanto em termos de impacto quando na sua
1984	facilidade de leitura.
1985	Tabelas e ilustrações. Somente ilustrações de
1986	alta qualidade serão aceitas. Todas as ilustrações
1987	serão consideradas como figuras, inclusive
1988	desenhos, gráficos, mapas, fotografias e tabelas
1989	com mais de 12 colunas ou mais de 24 linhas
1990	(máximo de figuras gratuitas: cinco figuras). A
1991	localização provável das figuras no artigo deve ser
1992	indicada.

- 1993 **Figuras digitalizadas.** As figuras devem ser
 1994 enviadas de acordo com as seguintes
 1995 especificações: 1. Desenhos e ilustrações devem
 1996 ser em formato .PS/.EPS ou .CDR (Postscript ou
 1997 Corel Draw) e nunca inseridas no texto; 2.
 1998 Imagens ou figuras em meio tom devem ser no
 1999 formato
 2000 .TIF e nunca inseridas no texto; 3. Cada figura
 2001 deve ser enviada em arquivo separado; 4. Em
 2002 princípio, as figuras devem ser submetidas no
 2003 tamanho em que devem aparecer na revista, i.e.,
 2004 largura de 8 cm (uma coluna) ou 12,6 cm (duas
 2005 colunas) e com altura máxima para cada figura
 2006 menor ou igual a 22 cm. As legendas das figuras
 2007 devem ser enviadas em espaço duplo e em folha
 2008 separada. Cada dimensão linear das menores
 2009 letras e símbolos não deve ser menor que 2 mm
 2010 depois da redução. Somente figuras em preto e
 2011 branco serão aceitas. 5.
 2012 Artigos de Matemática, Física ou Química podem
 2013 ser digitados em Tex, AMS-Tex ou Latex; 6.
 2014 Artigos sem fórmulas matemáticas podem ser
 2015 enviados em .RTF ou em WORD para Windows.
- 2016 **Página de rosto.** A página de rosto deve conter
 2017 os seguintes itens: 1. Título do artigo (o título
 2018 deve ser curto, específico e informativo); 2.
 2019 Nome (s) completo (s) do (s) autor (es); 3.
 2020 Endereço profissional de cada autor; 4. Palavras-
 2021 chave (4 a 6 palavras, em ordem alfabética);
 2022 5. Título abreviado (até 50 letras); 6. Seção da
 2023 Academia na qual se enquadra o artigo; 7.
 2024 Indicação do nome, endereço, números de fax,
 2025 telefone e endereço eletrônico do autor a quem
 2026 deve ser endereçada toda correspondência e prova
 2027 do artigo.
- 2028 **Agradecimentos.** Devem ser inseridos no final
 2029 do texto. Agradecimentos pessoais devem
 2030 preceder os agradecimentos a instituições ou
 2031 agências. Notas de rodapé devem ser evitadas;
 2032 quando necessário, devem ser numeradas.
 2033 Agradecimentos a auxílios ou bolsas, assim como
 2034 agradecimentos à colaboração de colegas, bem
 2035 como menção à origem de um artigo (e.g. teses)
 2036 devem ser indicados nesta seção.
- 2037 **Abreviaturas.** As abreviaturas devem ser
 2038 definidas em sua primeira ocorrência no texto,
 2039 exceto no caso de abreviaturas padrão e oficial.
 2040 Unidades e seus símbolos devem estar de acordo
 2041 com os aprovados pela ABNT ou pelo Bureau
 2042 International des Poids et Mesures (SI).
- 2043 **Referências.** Os autores são responsáveis pela
 2044 exatidão das referências. Artigos publicados e
 2045 aceitos para publicação (no prelo) podem ser
 2046 incluídos. Comunicações pessoais devem ser

- 2047 autorizadas por escrito pelas pessoas envolvidas.
 2048 Referências a teses, abstracts de reuniões,
 2049 simpósios (não publicados em revistas
 2050 indexadas) e artigos em preparo ou submetidos
 2051 mas ainda não aceitos, podem ser citados
 2052 no texto como (Smith et al. unpublished
 2053 data) e não devem ser incluídos na lista
 2054 de referências.
- 2055 As referências devem ser citadas no texto como,
 2056 por exemplo, (Smith 2004), (Smith and Wesson
 2057 2005) ou, para três ou mais autores, (Smith et al.
 2058 2006). Dois ou mais artigos do mesmo autor no
 2059 mesmo ano devem ser distinguidos por letras, e.g.
 2060 (Smith 2004a), (Smith 2004b) etc. Artigos com
 2061 três ou mais autores com o mesmo primeiro autor
 2062 e ano de publicação também devem ser
 2063 distinguidos por letras.
- 2064 As referências devem ser listadas em ordem
 2065 alfabética do primeiro autor sempre na ordem do
 2066 sobrenome XY no qual X e Y são as iniciais. Se
 2067 houver mais de 10 autores, use o primeiro
 2068 seguido de et al. As referências devem ter o nome
 2069 do artigo. Os nomes das revistas devem ser
 2070 abreviados. Para as abreviações corretas,
 2071 consultar a listagem de base de dados na qual a
 2072 revista é indexada ou consulte a World List of
 2073 Scientific Periodicals. A abreviatura para os Anais
 2074 da Academia Brasileira de Ciências é An Acad Bras
 2075 Cienc. Os seguintes exemplos são considerados
 2076 como guia geral para as referências.
- 2077 *Artigos*
- 2078 ALBE-FESSARD D, CONDES-LARA M, SANDERSON P AND
 2079 LEVANTE A. 1984a. Tentative explanation
 2080 of the special role played by the áreas of
 2081 paleospinothalamic projection in patients
 2082 with deafferentation pain syndromes. Adv
 2083 Pain Res Ther 6: 167-182.
- 2084 ALBE-FESSARD D, SANDERSON P, CONDES-
 2085 LARA M, DELANDSHEER E, GIUFFRIDA R
 2086 AND CESARO P. 1984b.
 2087 Utilisation de la depression
 2088 envahissante de Leão pour
 2089 l'étude de relations entre
 2090 structures centrales. An Acad
 2091 Bras Cienc 56: 371-383.
- 2092 KNOWLES RG AND MONCADA S. 1994. Nitric oxide
 2093 synthases in mammals. Biochem J 298: 249-258.
- 2094 PINTO ID AND SANGUINETTI YT.
 2095 1984. Mesozoic Ostracode Genus
 2096 Theriosynoecum Branson, 1936 and
 2097 validity of related Genera. An Acad

2098 Bras Cienc 56: 207-215.

2099 *Livros e Capítulos de Livros*

2100 DAVIES M. 1947. An outline of the
2101 development of Science, Athinker's Library,
2102 n. 120. London: Watts, 214 p.

2103 PREHN RT. 1964. Role of immunity in
2104 biology of cancer. In: NATIONAL
2105 CANCER CONFERENCE, 5, Philadelphia
2106 Proceedings, Philadelphia: J.B. Lippincott, p. 97-104.

2107 UYTENBOGAARDT W AND BURKE EAJ. 1971. Tables for
2108 microscopic identification of minerals, 2nd
2109 ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

2110 WOODY RW. 1974. Studies of
2111 theoretical circular dichroism of
2112 Polipeptides: contributions of B-turns.
2113 In: BLOUTS ER ET AL. (Eds), Peptides,
2114 polypeptides and proteins, New York:
2115 J Wiley & Sons, New York, USA, p.
2116 338-350.

2117 *Outras Publicações*

2118 INTERNATIONAL KIMBERLITE CONFERENCE, 5, 1991. Araxá,
2119 Brazil.
2120 Proceedings ... Rio de Janeiro: CPRM, 1994, 495 p.

2121 SIATYCKI J. 1985. Dynamics of Classical Fields.
2122 University of Calgary, Department of Mathematics
2123 and Statistics, 55 p. Preprint n. 600.
2124