



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PALOMA EDUARDA LOPES DE SOUZA

**ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS FENÓLICOS MICROENCAPSULADOS EM
DIETAS PARA GALINHAS POEDEIRAS**

AREIA

2025

PALOMA EDUARDA LOPES DE SOUZA

**ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS FENÓLICOS MICROENCAPSULADOS EM
DIETAS PARA GALINHAS POEDEIRAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias – CCA, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa

Coorientadores: Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra.

Dr. Cleber Franklin Santos de Oliveira

AREIA

2025

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S729á Souza, Paloma Eduarda Lopes de.

Ácidos orgânicos e compostos fenólicos
microencapsulados em dietas para galinhas poedeiras /
Paloma Eduarda Lopes de Souza. - Areia:UFPB/CCA, 2025.
52 f. : il.

Orientação: Fernando Guilherme Perazzo Costa.

Coorientação: Ricardo Romão Guerra, Cleber Franklin
Santos de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CAMPUS II.

1. Zootecnia. 2. Aditivo naturais. 3. Antioxidante.
4. Encapsulamento. 5. Saúde intestinal. I. Costa,
Fernando Guilherme Perazzo. II. Guerra, Ricardo Romão.
III. Oliveira, Cleber Franklin Santos de. IV. Título.

UFPB/CCA

CDU 636(043.3)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS FENÓLICOS
MICROENCAPSULADOS EM DIETAS PARA GALINHAS POEDEIRAS”

AUTORA: Paloma Eduarda Lopes de Souza

ORIENTADOR: Fernando Guilherme Perazzo Costa

J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa
Presidente
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Danilo Teixeira Cavalcante
Examinador
Universidade Federal do Agreste Pernambucano

Profa. Dra. Isabelle Naemi Kaneko
Examinadora
Universidade Federal de Rondônia

Areia, 26 de janeiro de 2024.

*Aos meus pais Marta e Mozano e
as minhas irmãs Letícia, Luanna e Safira.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, por ter me dado força, saúde, paciência e determinação nessa longa caminhada;

Aos meus pais Marta e Mozano e as minhas irmãs Letícia, Luanna e Safira por me apoiarem nesta minha jornada acadêmica, vocês são tudo para mim e aos meus familiares e amigos que torcem por mim desde o começo;

Aos meus amigos de graduação que me incentivaram à vim para o mestrado em Areia: Leidiane, Hellen, Carlos, Carla, Elaine, Breno, Fernando, Larissa, Jadson, Tamyres, Silvia, Silvano, Luciano, Jêmesson, Natan, Jacinta, Flavia e Marcelo;

Ao meu antigo orientador da graduação Danilo Cavalcante e aos meus amigos do NEAVI (Núcleo de Estudos em Avicultura);

Aos meus amigos de pós-graduação que me ajudaram muito durante essa fase: Roney, Jorge, Leonardo, Victória, Guilherme, Raiane, Valéria, Arthur, Isabely e Williany;

Aos amigos de grupo de estudos (GETA), Adiel Vieira e Carlos Henrique por todo o apoio e parceria de cada dia, saibam que tive muita sorte de trabalhar com vocês;

A Luanna Sales e Amanda Dantas, amigas e parceiras que trabalharam comigo para a realização do meu experimento de mestrado e que sou muito grata;

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Fernando Perazzo pelo recebimento no GETA e orientação nessa pesquisa;

Aos meus coorientadores Prof. Dr. Ricardo Guerra e Dr. Cleber Franklin e a banca avaliadora Profa. Dra. Isabelle Naemi e o Prof. Dr. Danilo Cavalcante.

Aos servidores Edjânio Galdino (Técnico do Laboratório de Histologia – CCA/UFPB), Jaldir Oliveira (Secretário do PPGZ) e Bruno Lobato (Zootecnista do Módulo de Avicultura – CCA - UFPB);

Agradeço ao Grupo de Estudos em Tecnologias Avícolas (GETA) que sempre adquiro novos conhecimentos e vivências;

Agradeço a Josivaldo e José Ramalho, membros indispensáveis do setor de avicultura, sem vocês esse trabalho não existiria;

Agradeço ao sistema Capes pelo consentimento da bolsa, sem esse incentivo essa realização não seria possível e a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - PPGZ (Prof. Dr. Edilson Saraiva).

Agradeço a empresa Ovo Novo em nome do Sr. Dr. Josimário que nos recebeu para a realização dos experimentos na granja, aos seus colaboradores (Aguinaldo, Aguinaldo Júnior, Josué, Sr. Marcos) e aos demais funcionários que nos ajudaram do começo ao fim na condução do experimento;

Agradeço a TECTRON pelo apoio as pesquisas do GETA e parceria importante;

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e que me incentivaram a não desistir, meu muito obrigada.

*“Mas se você nunca tentar,
você nunca saberá o quanto você vale”
(Coldplay)*

ÁCIDOS ORGÂNICOS E COMPOSTOS FENÓLICOS MICROENCAPSULADOS EM DIETAS PARA GALINHAS POEDEIRAS

RESUMO

Os ácidos orgânicos e compostos fenólicos são utilizados na nutrição das aves para manter a saúde intestinal regulando a presença de patógenos e melhorando a morfologia intestinal, consequentemente o aproveitamento dos nutrientes. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras. O experimento foi conduzido na granja Ovo Novo, foi utilizado um total de 600 galinhas poedeiras da linhagem Novogen Brown a partir de 30 semanas de idade distribuídas em um delineamento inteiramente ao acaso com seis tratamentos, 10 repetições com 10 aves cada. Os tratamentos foram: dieta controle, 200AD1: 200g/t do aditivo 1, 500AD1: 500g/t do aditivo 1, 200AD2: 200g/t do aditivo 2, 500AD2: 500g/t do aditivo 2 e AD3: 500g/t do aditivo 3. Foi avaliado o desempenho das aves, a qualidade dos ovos, o pH dos órgãos, o peso dos órgãos e gordura celomática e a histomorfometria intestinal. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade. A suplementação com os aditivos melhorou a produção de ovos, o peso dos ovos, espessura de casca, peso da gordura celomática, área absorptiva do duodeno e jejuno (500AD2). Menor peso de gordura celomática, menor espessura de casca e cor de gema mais intensa (AD3) e maior peso do ovo (200AD1). A suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados na dosagem de 500g/t do AD2 nas dietas de galinhas poedeiras mostrou-se mais eficaz para manter o desempenho zootécnico, qualidade de ovos, desenvolvimento dos órgãos e morfologia intestinal.

Palavras chave: aditivo naturais; antioxidante; encapsulamento; saúde intestinal.

ORGANIC ACIDS AND MICROENCAPSULATED PHENOLIC COMPOUNDS IN DIETS FOR LAYING HENS

ABSTRACT

Organic acids and phenolic compounds are used in bird nutrition to maintain intestinal health by regulating the presence of pathogens and improving intestinal morphology, consequently the use of nutrients. The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation of organic acids and microencapsulated phenolic compounds in laying hen diets. The experiment was conducted at the Ovo Novo farm, using a total of 600 laying hens of the Novogen Brown line from 30 weeks of age distributed in a completely randomized design with six treatments, 10 replications with 10 birds each. The treatments were: control diet, 200AD1: 200g/t of additive 1, 500AD1: 500g/t of additive 1, 200AD2: 200g/t of additive 2, 500AD2: 500g/t of additive 2 and AD3: 500g/t of additive 3. The performance of the birds, the quality of the eggs, the pH of the organs, the weight of the organs and coelomic fat and intestinal histomorphometry were evaluated. Treatment means were compared using the Student-Newman-Keuls (SNK) test at 5% probability. Supplementation with the additives improved egg production, egg weight, shell thickness, coelomic fat weight, absorptive area of the duodenum and jejunum (500AD2). Lower coelomic fat weight, lower shell thickness and more intense yolk color (AD3) and higher egg weight (200AD1). The supplementation of organic acids and microencapsulated phenolic compounds at a dosage of 500g/t of AD2 in the diets of laying hens proved to be more effective in maintaining zootechnical performance, egg quality, organ development and intestinal morphology.

Keywords: natural additives; antioxidant; encapsulation; gut health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Determinação da coloração de gema com o leque colorimétrico DSM	30
Figura 2 - Determinação de pH de gema e albúmen com o pHmetro portátil AKSO.....	31
Figura 3 - Processamento das lâminas histológicas	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais para galinhas poedeiras em período produtivo.....	28
Tabela 2 - Desempenho zootécnico da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade	34
Tabela 3 - Qualidade de ovos da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade	35
Tabela 4 - Peso dos órgãos e gordura celomática da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade	37
Tabela 5 - pH dos órgãos da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade	39
Tabela 6 - Histomorfometria de duodeno da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade	40
Tabela 7 - Histomorfometria de jejuno da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade	41
Tabela 8 - Histomorfometria de íleo da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade	42

LISTA DE ABREVIATURAS

200AD1 - 200g/t do aditivo 1

200AD2 - 200g/t do aditivo 1

500AD1 - 500g/t do aditivo 2

500AD2 - 500g/t do aditivo 2

AD3 - 500g/t do aditivo 3

CADZ - Conversão por Dúzia de Ovo

CAM - Conversão por Massa de Ovo

CG - Centralização de gema

CON - Controle

COR - Cor de gema

CR - Consumo de Ração

EC - Espessura de casca

GE - Gravidade específica

IG - Índice gema

MO - Massa de Ovo

pH_A - pH de albúmen

pH_C - pH do ceco

pH_D - pH do duodeno

pH_G - pH de gema

pH_I - pH do íleo

pH_J - pH do jejuno

pH_M - pH da moela

pH_P - pH do proventrículo

PO - Peso do Ovo

PR - Produção

PRA - Percentual de albúmen

PRB - Peso Relativo Baço

PRC - Percentual de Casca

PRF - Peso Relativo Fígado

PRG - Percentual de Gema

PRG - Peso Relativo Gordura

PRID - Peso Relativo Intestino Delgado

PRIG - Peso Relativo Intestino Grosso

PRM - Peso Relativo Moela

PRP - Peso Relativo Pâncreas

PRPV - Peso Relativo Proventrículo

UH - Unidade Haugh

VIAB - Viabilidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 TRATO GASTROINTESTINAL DAS AVES	16
2.2 SAÚDE INTESTINAL E INFLUÊNCIA DE ADITIVOS.....	17
2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS	19
2.3.1 Óleo de palma	19
2.3.2 Cineol.....	20
2.3.3 Timol.....	21
2.3.4 Carvacrol.....	21
2.4 ÁCIDOS ORGÂNICOS.....	22
2.4.1 Ácido fumárico	23
2.4.2 Ácido cítrico	24
2.4.3 Ácido butírico	24
2.5 EFEITOS DA MICROENCAPSULAÇÃO	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DO EXPERIMENTO, DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E DIETA.....	27
3.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO	29
3.3 QUALIDADE DE OVOS	29
3.4 PESO E PH DOS ÓRGÃOS	31
3.5 ESTUDO HISTOLÓGICO E MORFOMÉTRICO.....	32
3.6 QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS CALICIFORMES DO DUODENO, JEJUNO E ÍLEO ...	33
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as pesquisas têm se intensificado visando encontrar alternativas inovadoras para os antibióticos, que estão associados à resistência antimicrobiana. Nesse sentido, os compostos naturais emergiram como alternativas mais viáveis, nos quais destacam-se os ácidos orgânicos e os óleos essenciais (Islam *et al.*, 2022). Estes influenciam no desempenho zootécnico aumentando a digestibilidade e absorção dos nutrientes, na morfologia intestinal promovendo aumento das vilosidades e na modificação da microbiota por promover maior contagem de microrganismos benéficos, e a sua mistura pode ampliar os efeitos de ambos (Stamilla *et al.*, 2020).

Os óleos essenciais (OE) apresentam uma alta concentração de compostos fenólicos bioativos que desempenham funções antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias no íleo através da regulação dos genes neste tecido (Moharreri *et al.*, 2021). É utilizado no mercado o carvacrol, timol, eugenol, cinamaldeído, óleo de palma e entre outros compostos fitogênicos. Orzuna-Orzuna; Lara-Bueno (2023), observaram no soro sanguíneo que a inclusão dietética de OE aumentou os níveis de superóxido dismutase e glutathione peroxidase, enzimas que controlam os radicais livres produzidos, e a capacidade antioxidante total. Kolani *et al.* (2019), identificaram que a adição de 2% de óleo de palma resultou em um efeito benéfico no desempenho da produção de ovos de galinhas poedeiras.

Os ácidos orgânicos são ácidos fracos e dissociam-se apenas parcialmente, podem atuar como antibacterianos, potencializadores imunológicos e promotores de crescimento (Khan *et al.*, 2022). A acidificação no intestino resulta na inibição das bactérias patogênicas que competem com o hospedeiro pelos nutrientes disponíveis, além de reduzir a produção de metabólitos bacterianos tóxicos (Kunz *et al.*, 2011). Os ácidos graxos de cadeia curta, os ácidos graxos de cadeia média e outros ácidos orgânicos possuem diferentes níveis de atividade antimicrobiana, dependendo tanto da concentração do ácido quanto da espécie bacteriana exposta a ele (Khan; Iqbal, 2016). Os ácidos orgânicos pertencem à diferentes classes (butírico, acético, cítrico, fórmico, láctico, propiônico e outros), e além da ação antimicrobiana, estimula a atividade enzimática (Funari Junior *et al.*, 2011).

Como característica dos ácidos e óleos essenciais, estes produtos são voláteis e que durante o processamento da ração podem evaporar ou atuar no estômago e no intestino delgado proximal (Michiels *et al.*, 2008). O microencapsulamento é uma técnica utilizada para melhorar a viabilidade dos ácidos orgânicos e óleos essenciais durante o processamento e para a entrega

direcionada no trato gastrointestinal (Jadhao *et al.*, 2019). No qual pequenas partículas ou gotículas são envolvidas por uma parede de revestimento lipídica para formar pequenas cápsulas. Permitindo que essas substâncias permaneçam inativas no estômago, sendo ativadas apenas sob a ação dos sais biliares e da lipase no intestino, onde exercem seus efeitos benéficos. Abdelli *et al.* (2021), observaram que a microencapsulação protegeu o ácido fumárico e o timol, sendo absorvidos de forma lenta durante todo o trato gastrointestinal (TGI).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de ácidos associados com óleos essenciais sobre o desempenho zootécnico, qualidade de ovos, pH e desenvolvimento do trato digestório e morfologia intestinal de galinhas poedeiras.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TRATO GASTROINTESTINAL DAS AVES

O sistema digestório tem a função de reduzir os nutrientes dos alimentos em compostos através da mastigação (fragmentação mecânica) ou digestão química (enzimas) que serão absorvidos e utilizados pelos tecidos. Modificações morfológicas podem afetar significativamente o desempenho do animal em razão da influência sobre o aproveitamento dos nutrientes. As aves apresentam o sistema digestório anatomicamente diferente dos outros não ruminantes, observa-se a presença de bico, papo, proventrículo, moela, ceco bifurcado, cloaca e intestinos mais curtos que os dos mamíferos para redução do peso corporal, adaptação importantes para aves que voam (Sakomura *et al.*, 2014; Reece, 2017).

Nas galinhas, o papo secreta muco (7-30 mL por dia) para lubrificar a ingesta e a digestão do amido ocorre por ação bacteriana neste ambiente. No proventrículo é liberado muco, HCl e pepsinogênio (convertido em pepsina no pH ácido). O pH do suco gástrico (0,5 a 2,5) é o ideal para a hidrólise de moléculas proteicas, o pH do conteúdo é em torno de 4,8. A moela reduz as partículas do alimento e mistura com líquidos digestivos. No intestino delgado ocorre a digestão química, por meio de enzimas pancreáticas (lipase, amilase e precursores das enzimas proteolíticas) e microbiota. O pâncreas secreta bicarbonato para neutralizar o quimo gástrico ácido (pH ideal: 6-8) (Reece, 2017; Araújo e Zanneti, 2019).

O intestino delgado é onde ocorre a maior parte da digestão e absorção e é composto de três segmentos: duodeno, jejuno e íleo. O duodeno recebe as secreções pancreáticas e a bile do fígado para a digestão e absorção de gorduras e vitaminas. No lúmen do intestino delgado há exposição de uma grande área da superfície de absorção, que é recoberta com vilosidades e as células epiteliais individuais que reveste as vilosidades apresentam suas próprias microvilosidades na superfície luminal. As microvilosidades amplifica a área da superfície de absorção e compõe uma estrutura denominada bordo em escova (Rowe e Reece, 2020).

O intestino grosso está envolvido no processo de reabsorção de água, e ao realizar esse processo, ajuda na manutenção do equilíbrio de água no organismo e em todo o corpo da ave. No ceco, ocorre uma pequena quantidade de digestão de carboidratos e proteínas, além da fermentação microbiana da fibra dietética (Silva, 2020).

Du *et al.* (2020), descreveram e identificaram que a composição da microbiota intestinal geralmente é benéfica, como os *Lactobacillus* e as *Bifidobactérias*. Estes microrganismos têm o papel de maturar a barreira intestinal (vilosidades), estimular transportadores de nutrientes, estimular a secreção de muco para proteção do tecido ou degradar como fonte nutricional para si, degradar fibra em nutrientes de melhor digestibilidade e absorção e competir com os

microrganismos patogênicos por nutrientes e sítios de adesão, como também secretar enzimas e substâncias bactericidas que eliminam os patógenos (Sakomura *et al.*, 2014).

Os filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes* e *Proteobacteria* formam a grande maioria da microbiota intestinal em galinhas poedeiras e a sua sucessão dinâmica ocorre durante todos os períodos de postura. O seu número e composição variam em função da idade da ave e do segmento intestinal (Macari *et al.*, 2014; Dai *et al.*, 2022). Khan *et al.* (2020), afirmam que a microbiota intestinal normal de galinhas poedeiras é composta por *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Fusobacteria* e *Actinobacteria* em nível de filo. E que a composição da microbiota intestinal muda com a idade, genótipo e sistema de produção da ave.

Dai *et al.* (2022), relatam que além dos efeitos diretos sobre a segurança dos ovos, sugere-se que a microbiota intestinal e seus metabólitos, como ácidos graxos de cadeia curta, ácidos biliares e derivados de triptofano, modulam indiretamente a qualidade dos ovos pelo eixo microbiota-intestino-fígado/cérebro-trato reprodutivo. Nitish *et al.* (2023), sugeriram que a alta abundância de *Firmicutes* na fase de recria e de postura inicial está relacionada com a maior necessidade de energia fisiológica para o crescimento e produção de ovos, enquanto durante a postura intermediária e tardia, a necessidade de energia da ave é comparativamente menor e, portanto, na busca de um melhor equilíbrio energético para manter a postura, a *Bacteroidetes* substitui parcialmente *Firmicutes*.

Os microrganismos benéficos atuam positivamente, ao contrário dos patogênicos que prejudicam a saúde da ave, afetando o desempenho produtivo. Madlala, Okpeku e Adeleke (2021) relataram a infecção parasitária causada por *Eimeria spp.* perturbou o equilíbrio no ambiente intestinal, levando ao aumento de patógenos como as espécies de *Clostridium*. A coccidiose afeta a composição e integridade da microbiota intestinal, tornando as galinhas mais susceptíveis a doenças que representam um sério risco para sua saúde geral e produtividade.

A exploração de alternativas naturais vem sendo fundamental na avicultura para o controle de patógenos através da modificação e restauração da microbiota intestinal benéfica, sem induzir resistência aos medicamentos.

2.2 SAÚDE INTESTINAL E INFLUÊNCIA DE ADITIVOS

Nos últimos anos, vários estudos foram realizados com intuito de identificar os microrganismos presentes ao longo do trato gastrointestinal das aves e quais as modificações que

ocorrem sobre a influência de alguns fatores externos e internos. As modificações na microbiota podem ser influenciadas por inclusão de aditivos na dieta, diferentes práticas de manejo, processamento da matéria-prima, estresse e presença de patógenos (Macari; Maiorka, 2017).

No ceco ocorre a digestão de alguns substratos pela ação das bactérias, produzindo os ácidos graxos de cadeia curta que são utilizados pelo hospedeiro para manter a homeostase energética e os processos biológicos. A ave nas fases iniciais de vida, apresentam uma diversidade e densidade de microrganismos baixa e que aumenta à medida que se desenvolve. A colonização de microrganismos no trato gastrointestinal, sendo ela comensal, é essencial para a saúde e o bem-estar do hospedeiro (Sakomura *et al.*, 2014; Du *et al.*, 2020; Macari; Maiorka, 2017; Wilkinson *et al.*, 2020).

O uso de antibióticos como promotores de crescimento foi restrito pela legislação brasileira (MAPA) em função da resistência bacteriana que segue a Instrução Normativa nº 13 de 30/11/2004. Os aditivos classificam-se em tecnológicos, sensoriais, nutricionais e zootécnicos. Os aditivos zootécnicos são substâncias usadas no intuito de melhorar o desempenho do animal e inclui os digestivos (enzimas exógenas), equilibradores da flora intestinal (prebióticos, probióticos e ácidos orgânicos) e os fitogênicos (óleos essenciais) (Sakomura *et al.*, 2014).

Em razão da presença de microrganismos benéficos e patogênicos, são utilizados moduladores da microbiota visto que podem influenciar o desempenho e metabolismo do hospedeiro. Os mecanismos possíveis compreendem a produção de bacteriocinas, redução da taxa de crescimento dos patógenos, inibição dos fatores de colonização do patógenos e competição ou modificação por locais de aderência (Macari *et al.*, 2014).

Moharreri *et al.* (2021) relataram que o uso de óleos essenciais resultou na regulação dos genes antioxidantes e de inflamação no tecido do íleo. Consequentemente, as microcápsulas carregadas de óleo essencial foram consideradas como um fitobiótico promissor contra a infecção por *C. perfringens*. Abdelli *et al.* (2021) afirmaram que os metabólitos secundários vegetais e óleos essenciais, também conhecidos como fitogênicos, promove a eficiência alimentar, aumenta a produção de secreções digestivas e a absorção de nutrientes, reduzindo a carga patogênica no intestino, exercem propriedades antioxidantes e diminuem a carga microbiana no estado imunológico do animal.

2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, +geralmente odoríferas e líquidas, constituídos na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênica (Morais, 2009). Os extratos de ervas e preparações de especiarias têm sido valorizados desde tempos históricos pelas suas propriedades antimicrobianas (NRC, 2012).

Os óleos essenciais (OE) possuem uma elevada concentração de compostos fenólicos bioativos, que desempenham funções antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias no íleo, regulando os genes neste tecido (Moharrer *et al.*, 2021; Albino *et al.*, 2017). No mercado, são utilizados o carvacrol, timol, eugenol, cinamaldeído, óleo de palma e outros compostos fitogênicos.

Orzuna-Orzuna; Lara-Bueno (2023) observaram no soro sanguíneo que a inclusão de OE na dieta resultou no aumento dos níveis de superóxido dismutase e glutathione peroxidase, enzimas responsáveis por controlar a produção de radicais livres, além de melhorar a capacidade antioxidante total. Kolani *et al.* (2019) constataram que a adição de 2% de óleo de palma teve um efeito benéfico no desempenho da produção de ovos em galinhas poedeiras.

O uso de óleos essenciais em substituição aos aditivos de crescimento na alimentação das aves busca melhorar a microbiota intestinal e, conseqüentemente, promover um melhor desempenho produtivo. Isso se deve ao fato de que os óleos essenciais impedem a colonização de bactérias patogênicas na mucosa intestinal (Fernandes *et al.*, 2015).

2.3.1 Óleo de palma

Nos países tropicais, o óleo de palma (Palmeira da África do Sul) é utilizado como fonte de energia e ácidos graxos essenciais na alimentação de aves, ricos em palmítico, carotenóides e vitamina E. Vários tipos de óleos podem ser produzidos a partir do mesocarpo (fibra) e do caroço dos frutos do óleo de palma (Izuddin *et al.*, 2022). Fornece altos níveis calóricos e sua inclusão nas rações de postura aumenta a absorção de vitaminas solúveis em óleo. Seu alto teor de carotenóides (500-700 ppm) melhora a qualidade do ovo, aumentando o teor de ácidos graxos e a intensidade da cor da gema (Saminathan *et al.*, 2020).

O óleo de palma pode influenciar o trânsito alimentar, melhorando a digestibilidade e a absorção de nutrientes. Estes benefícios permitem maior deposição de nutrientes para a formação do ovo. De acordo com Kolani *et al.* (2019), ao avaliarem diferentes níveis de

inclusão de óleo de palma em galinhas Isa Brown com 55 semanas de idade, observaram que a suplementação de óleo de palma (2%) apresentou altas taxas de postura, baixo peso dos ovos, baixo peso do fígado e baixa conversão alimentar, enquanto óleo de palma (3%) apresentou os ovos mais pesados e a maior concentração sérica de proteína total.

Estudos mostram efeitos relacionados ao tempo do armazenamento dos ovos, nos quais o óleo de palma contribui para menores perdas de qualidade. Santos, Segura e Sarmiento (2019), utilizaram galinhas com 28 semanas de idade e suplementaram com 30 g/kg de óleo de palma e armazenaram os ovos durante 0, 4, 8 e 12 dias a 4, 12 e 24 °C e afirmaram que a dieta com óleo de palma apresentou ovos e albúmen mais pesados do que na dieta controle. As variáveis diminuíram com o aumento da temperatura e dos dias de armazenamento, mas os ovos de galinhas suplementadas com óleo de palma apresentaram melhor qualidade em algumas características aos 12 dias de armazenamento, principalmente a Unidade Haugh.

2.3.2 Cineol

O óleo essencial oriundo do eucalipto e do alecrim é rico em compostos bioativos como 1,8 cineol, que possui atividade antimicrobiana. Prolongam a vida útil dos ovos, fornecendo proteção contra os radicais livres de oxigênio, reduzindo os efeitos do estresse oxidativo.

Cimrin *et al.* (2020), relataram que durante o armazenamento dos ovos, os níveis de MDA (malondialdeído) na gema dos ovos das aves que receberam os óleos essenciais na ração foram significativamente inferiores do que o controle ou o tratamento com antibióticos. Os óleos essenciais (cinamaldeído e cineol) são transferidos para os ovos galinhas e retardam a peroxidação na gema, rica em ácidos graxos insaturados, principalmente no verão. Observaram que o grupo controle ou tratados com antibióticos, o nível de radicais livres aumentou com a temperatura de armazenamento mais elevada e o armazenamento prolongado, levando o aumento dos níveis de MDA, como um indicador que ocorreu peroxidação.

Zhang *et al.* (2023), afirmaram que a suplementação com extratos de alecrim melhorou a unidade Haugh e aumentou a atividade da superóxido dismutase sérica (SOD) em comparação com o grupo controle. Observaram alteração no metabolismo de carboidratos e aminoácidos da microbiota cecal e aumento nas enzimas sintetizadoras de butirato, incluindo 3-oxoácido CoA-transferase e butirato-acetoacetato CoA-transferase. Além disso, a análise transcriptômica revelou que houve melhora nas expressões gênicas e vias funcionais relacionadas à imunidade e à formação de albumina no oviduto (magno).

2.3.3 Timol

O timol atua sobre a membrana celular bacteriana desestruturando-a, inibindo a divisão mitótica e reduzindo a sobrevivência de bactérias patogênicas. É um óleo essencial proveniente do tomilho e é uma das alternativas aos antibióticos no mercado da avicultura. Esse composto pode afetar o comportamento das poedeiras e influenciar a composição dos ovos, a espessura da casca e a qualidade sensorial dos ovos (Gholami-Ahangaran *et al.*, 2022).

Abdel-Wareth (2016) afirmou que a suplementação de timol e simbiótico, separadamente ou combinados, melhorou o peso dos ovos, a produção de ovos, a massa de ovos e a conversão alimentar das galinhas de 24 às 36 semanas de idade. Os ovos obtidos dos tratamentos timol, simbiótico ou seus combinados apresentaram maiores valores de espessura de casca, unidade Haugh e porcentagem de casca em relação ao controle.

A combinação adequada de óleos essenciais pode melhorar as características de desempenho e bem-estar das galinhas poedeiras. Wang *et al.* (2022), avaliaram os efeitos dos óleos essenciais dietéticos, compostos de cinamaldeído com carvacrol ou timol, no desempenho, qualidade dos ovos e saúde intestinal em poedeiras Hy-line Brown pós-pico (50 semanas de idade). A adição de óleos essenciais diminuiu a taxa de ovos sujos, aumentaram a resistência da casca dos ovos e a unidade Haugh. Além de aumentar significativamente a proporção entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas no duodeno através do aumento da altura das vilosidades e da diminuição da profundidade das criptas.

2.3.4 Carvacrol

O óleo de orégano possui como principal princípio ativo o composto fenólico o carvacrol, que melhora o aproveitamento dos nutrientes e mantém a integridade da mucosa intestinal. Ramirez, Peñuela-Sierra e Ospina (2021), identificaram que a adição de 150 ppm do óleo de orégano na dieta melhorou a produção e massa de ovos, a qualidade externa e interna do ovo em comparação com o controle ou antibióticos. Além disso, tanto o tratamento 80 ppm quanto o 150 ppm do óleo de orégano melhoraram a cor da gema, a espessura e a cor da casca, bem como parâmetros relacionados à morfometria intestinal em comparação ao grupo controle.

Outro efeito positivo é o aumento de contagem bactérias benéficas no trato gastrointestinal e atividade de enzimas necessárias para a degradação dos nutrientes para serem absorvidos. Feng *et al.* (2021), observaram que a adição de óleo de orégano aumentou a atividade da quimotripsina e da lipase ileal, juntamente com um aumento linear na relação entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas, e aumento da abundância de *Burkholderiales*, *Actinobacteria*, *Bifidobacteriales*, *Enterococcaceae* e *Bacillaceae*, enquanto diminuiu a abundância de *Shigella* no íleo.

2.4 ÁCIDOS ORGÂNICOS

Conforme Ortiz (2018), os ácidos orgânicos são compostos à base de carbono e possuem em sua estrutura um grupo carboxílico ácido. De acordo com Menten *et al.* (2014), esses ácidos são encontrados nos tecidos de animais e vegetais e atuam como controladores da carga bacteriana no trato digestivo, promovendo melhorias na morfologia intestinal. Ao contrário dos antibióticos, eles não causam resistência microbiana. Os ácidos orgânicos são substâncias acidificantes que reduzem o pH na porção inicial do trato digestório para melhorar os níveis de pepsina e potencializar um efeito bactericida ou bacteriostática ao reduzir a capacidade das bactérias ligarem-se a parede intestinal da ave e aumentar a disponibilidade de cálcio, magnésio, ferro, cobre e zinco (Albino *et al.*, 2017).

Os principais ácidos orgânicos utilizados são o ácido fórmico, ácido acético, ácido propionico, ácido sórbico, ácido láctico, ácido fumárico e ácido cítrico (Menten *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2018). Esses ácidos têm o poder de reduzir a carga microbiana no trato digestivo ao diminuírem o pH do trato gastrointestinal, reduzindo assim a presença de microrganismos patogênicos (Dibner; Buttin, 2002). Os efeitos dos ácidos orgânicos variam dependendo do seu estado de dissociação. A dissociação considera o valor de pH do ambiente e é descrito pelo pKa específico (constante de dissociação) valor para cada ácido, que define o pH a uma dissociação de 50% avaliar. Quanto menor o valor de pKa, mais forte é o ácido, determinando a sua capacidade de reduzir o pH do ambiente. Os ácidos usados como aditivos alimentares têm valores de pKa entre 3 e 5, e são classificados como sendo de resistência intermediária (Lückstädt, 2007).

Conforme afirmado por Menten *et al.* (2014), essa diminuição do valor de pH tem a capacidade de ampliar a atividade proteolítica, colaborando, assim, com a aprimoração da

digestão e absorção das proteínas e aminoácidos. Embora o mecanismo de ação dos ácidos orgânicos ainda esteja sendo estudado, é inquestionável que eles trazem vantagens, tais como o aumento da digestibilidade e, por conseguinte, um melhor desempenho (Espíndola, 2016). Os ácidos orgânicos são capazes de tornar permeável a membrana das bactérias Gram-negativas e diminuir o pH intestinal, ocasionando um enfraquecimento dessas células e um aumento na eficácia das bacteriocinas produzidas pelas bactérias lácticas (Macari *et al.*, 2014).

2.4.1 Ácido fumárico

O ácido fumárico em animais é gerado durante a decomposição do aspartato, aminoácidos fenilalanina e tirosina, no ciclo da ornitina e durante a purina síntese. Sua atividade antimicrobiana tem como alvo bactérias gram-negativas e gram-positivas, e coliformes (especialmente *E. coli*) que são particularmente reduzidos, enquanto o crescimento de variedades de leveduras dificilmente é inibido e os lactobacilos toleram o ácido fumárico (Lückstädt, 2007).

Yesilbag e Colpan (2006), relataram que a associação de ácido fumárico e ácido propiônico em galinhas poedeiras melhorou significativamente a produção de ovos, acelerando a capacidade de postura das galinhas de 24 a 28 semanas e persistindo o período de postura das galinhas para 36 e 38 semanas, bem como eficiência alimentar em menor grau. A proteína, a albumina sérica e a atividade sérica aumentaram significativamente enquanto os outros parâmetros séricos testados (colesterol, triglicerídeos, lipídeos totais e concentrações de HDL e LDL) não variaram.

Os ácidos orgânicos potencializam a ação da pepsina no intestino (Sakomura *et al.*, 2014), Vertiprakhov, Grozina, Borisenko (2019), analisaram as propriedades bioquímicas do sangue de galinhas com 46 semanas de idade suplementadas com ácido fumárico (100 g/t) e observaram que a atividade da lipase aumentou em 66,7% com adição do acidificante dietético na dieta.

2.4.2 Ácido cítrico

O ácido cítrico é um ácido orgânico fraco, na forma de pó cristalino branco, não sendo tóxico e nem inflamável. Pode quelar íons metálicos realizando ligações entre metais e os grupos carboxila ou hidroxila da molécula de ácido cítrico. É eficiente no retardamento da deterioração de lipídios em alimentos e comumente associado a óleos vegetais (Pereira *et al.*, 2013). Drabik *et al.* (2021), avaliaram ovos de galinha armazenados durante 7, 14, 21 e 28 dias pulverizados com ácido cítrico e afirmaram que os ovos tratados demonstraram menor perda de peso, células de ar mais rasas, maior albúmen estrutural, menor difusão de água do albúmen para a gema, indicando maior resistência da membrana vitelina. Sugeriram o fato do ácido cítrico ser aceito e reconhecido como um conservante alimentar seguro e ser uma substância relativamente barata e disponível, podendo ser utilizado para inibir alterações de qualidade em ovos durante o seu armazenamento.

Sua ação combinada com outros aditivos é estudada com o intuito de compreender e identificar seus efeitos de forma sinérgica. Jasim e Taha (2017), avaliaram a suplementação isolada ou associada de probiótico e ácido cítrico em galinhas Lohmann Brown com 20 semanas de idade e afirmaram que a adição associada melhorou a qualidade dos ovos, aumentando significativamente o peso dos ovos, peso da casca, peso da gema, índice de gema, unidade haugh em comparação com galinhas alimentadas com uma única adição de probiótico ou ácido cítrico, refletindo um efeito sinérgico entre o probiótico e o ácido cítrico.

O ácido cítrico tem influência na digestibilidade dos nutrientes, podendo estar relacionado aos seus efeitos na morfologia intestinal ou formação de quelatos aumentando a digestibilidade e retenção de cálcio, ferro, cobre e magnésio (Sakomura *et al.*, 2014). Vargas-Rodriguez *et al.* (2015), concluíram que o ácido cítrico reduz os níveis de excreção e aumenta a digestibilidade de fósforo, nitrogênio e cálcio e tem efeito na resposta da fitase ao afetar as excreções de fósforo e nitrogênio.

2.4.3 Ácido butírico

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) ou ácidos graxos voláteis (AGV) são produtos da fermentação no ceco, oriundos da ação microbiana. Os produtos que são produzidos em maior quantidade, são os ácidos acético, propiônico e butírico (Araújo e Zanetti, 2019). O butirato é o principal AGCC utilizado como fonte de energia que ajuda a regular o crescimento

das células epiteliais, influenciando na diferenciação e apoptose no intestino delgado, aumentando a capacidade absorptiva (Sakomura *et al.*, 2014). O ácido butírico por ser volátil, é disponibilizado em forma de sais microencapsulados (butirato de sódio e butirato de cálcio).

Sobczak e Kozłowski (2016), avaliaram a suplementação de ácido butírico e butirato de sódio na linhagem Lohmann Brown com 48 semanas de idade e identificaram que a suplementação contribuiu para um aumento significativo na espessura da casca do ovo, no peso da casca, maior atividade de enzimas bacterianas no ceco e maiores concentrações de ácido butírico no conteúdo cecal. Identificaram a suplementação de ácido butírico protegido apresentou maiores concentrações de cálcio nos ossos e menores concentrações de amônia no ceco. Miao *et al.* (2021), relataram que a dose de 500 mg/kg de butirato de sódio revestido aumentou a produção de ovos, de 500 e 750 mg/kg melhorou a conversão alimentar, aumentaram as atividades de tripsina e amilase no pâncreas e duodeno e a altura das vilosidades e a razão altura das vilosidades/profundidade das criptas (V/C) no jejuno e íleo. As doses de 500 e 1000 mg/kg melhoraram a resistência da casca do ovo e a unidade Haugh.

Pires *et al.* (2021), avaliaram a adição de butirato de sódio revestido em galinhas poedeiras com 76 semanas de idade sobre a histomorfometria intestinal e identificaram aumento na capacidade de absorção de nutrientes e menores perdas de energia quando foi utilizado butirato de sódio protegido, e que o uso de 300 g/t de butirato de sódio foi o mais eficiente, pois resultou nas maiores alturas de vilosidades do duodeno e do jejuno, bem como nas maiores relações vilos:cripta nos três segmentos do intestino delgado. Zhang *et al.* (2022), observaram que a inclusão de butirato de sódio revestido (800 mg/kg) melhorou a conversão alimentar e a produção de ovos, a altura das vilosidades do jejuno e íleo e maiores concentrações de butirato no ceco e no íleo e diversidade microbiana benéfica.

Shahir *et al.* (2012), a suplementação de butirato de cálcio (0,1%) aumentou a espessura da casca dos ovos de poedeiras Hy-Line W-36 (62 a 70 semanas de idade). Song *et al.* (2022), identificaram que a inclusão de butirato de cálcio (0,5%) na linhagem Isa Brown com 70 semanas de idade, diminuiu o teor de cálcio e fósforo da tíbia e melhorou a qualidade da casca dos ovos, sugeriram como resultado da diminuição da deposição ou do aumento da mobilização de cálcio e fósforo ósseo.

Estudos com a suplementação de butirato de sódio em galinhas poedeiras são encontrados com maior quantidade, ao contrário do butirato de cálcio. Mais pesquisas sobre a suplementação

do butirato de cálcio são necessárias para determinar a dosagem mais adequada e seus efeitos nas aves.

2.5 EFEITOS DA MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação é uma técnica utilizada para melhorar a viabilidade dos ácidos orgânicos e óleos essenciais durante o processamento e para a entrega direcionada no trato gastrointestinal (Jadhao *et al.*, 2019), pois os ácidos orgânicos e os óleos essenciais são produtos voláteis que durante o processamento da ração podem evaporar ou atuar no estômago ou intestino delgado proximal (Michiels *et al.*, 2008).

O método consiste na formação de pequenas partículas ou gotículas que são envolvidas por uma parede de revestimento lipídica para formar pequenas cápsulas. Os métodos de encapsulamento incluem secagem por pulverização, emulsificação, liofilização, revestimento em leite fluidizado, extrusão e tecnologias de fluídos supercríticos (Moharrerri *et al.*, 2021). Permitindo que essas substâncias permaneçam inativas no estômago, sendo ativadas apenas sob a ação dos sais biliares e da lipase no intestino, onde exercem seus efeitos benéficos.

Gao *et al.* (2019), relataram que a microencapsulação de ácidos orgânicos e óleos essenciais reduziram os níveis cecais de *Escherichia coli* e *Salmonella*, maior relação altura-profundidade das criptas das vilosidades do jejuno e promoveram atividade da quimotripsina em frangos de corte. Wang *et al.* (2019), observaram que a adição de 150 mg/kg (óleos essenciais encapsulados e ácidos orgânicos) houve um aumento significativo na taxa de postura na dieta e as doses (150 a 300 mg/kg) um aumento linear na altura das vilosidades ileais em galinhas poedeiras, além de maiores contagens de *Bifidobacterium* na digestão cecal nas semanas 25 e 30. Yang *et al.* (2019), identificaram que a adição de (0,30 g/kg ácidos orgânicos encapsulados e óleos essenciais) reduziu o pH da digesta jejunal e da digesta ileal, aumentou as concentrações de ácido butírico, ácido acético e ácidos graxos totais de cadeia curta na digesta ileal, e reduziu a contagem de *Escherichia coli*.

Abdelli *et al.* (2021), indicaram que a técnica de microencapsulação pode ser útil para proteger o ácido fumárico e o timol, evitando a absorção precoce, garantindo sua liberação lenta em todo o TGI e melhorando seus efeitos na conversão alimentar e na morfologia intestinal. Estudo de Johnson *et al.* (2023), observaram que a mistura microencapsulada de ácidos orgânicos e vegetais provoca um fenótipo mais antiinflamatório e uma sinalização reduzida no jejuno, ao mesmo tempo que resulta em respostas imunometabólicas melhoradas no íleo.

Outra função importante é a relação de proteção contra o estresse oxidativo, no qual a microencapsulação de ácidos orgânicos e óleos essenciais melhora a atividade das enzimas

responsáveis pelo controle do estresse oxidativo. Facchi *et al.* (2022), relataram melhora na atividade da glutathione peroxidase e da glutathione-S-transferase.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DO EXPERIMENTO, DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E DIETA

O experimento foi conduzido na granja Ovo novo, localizada no Sítio Reinado, S/N, distrito de Caruaru – PE, 55000-000, de maio a agosto de 2023. O período experimental durou 112 dias dividido em quatro ciclos de 28 dias. As aves foram alojadas em um aviário do setor de produção da granja, climatizado com ventiladores, abertos e cercados com tela, temperatura e umidade registrados diariamente através de um termo-higrômetro, e o programa de luz era de 12h luz natural + 3h de luz artificial.

Foram utilizadas 600 galinhas poedeiras da linhagem Novogen Brown a partir de 30 semanas de idade, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em seis tratamentos, 10 repetições e com 10 aves por unidade experimental, totalizando 60 unidades experimentais.

Os tratamentos foram: T1: dieta controle (DC), T2: 200g/t aditivo 1 (200AD1), T3: 500g/t aditivo 1 (500AD1), T4: 200g/t aditivo 2 (200AD2), T5: 500g/t aditivo 2 (500AD2) e T6: 500g/t aditivo 3 (AD3).

Os aditivos reguladores de acidez que foram adicionados nas dietas apresentam em sua composição:

- 1) Aditivo 1 - Óleo de palma, ácido cítrico (mín.) 65g/kg, ácido fumárico (mín.) 130g/kg, ácido fosfórico (mín.) 65g/kg, ácido málico (mín.) 65g/kg, ácido láurico (mín.) 120mg/kg, timol (mín.) 5g/kg, carvacrol (mín.) 5g/kg, cineol (mín.) 5g/kg.
- 2) Aditivo 2 - Óleo de palma, ácido cítrico (mín.) 65g/kg, ácido fumárico (mín.) 130g/kg, ácido fosfórico (mín.) 65g/kg, ácido málico (mín.) 65g/kg, ácido láurico (mín.) 120mg/kg, timol (mín.) 20g/kg, carvacrol (mín.) 10g/kg.
- 3) Aditivo 3 - Óleo de palma, aromatizante, butirato de cálcio (mín.) 450 g/kg.

A dieta comercial da granja para seus lotes foi utilizada em todos os tratamentos, adicionando os aditivos e sua quantidade correspondente a cada tratamento. O fornecimento aos animais ocorreu diariamente no período da manhã e a tarde, observando-se a disponibilidade da ração nos comedouros para evitar desperdícios.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais para galinhas poedeiras em período produtivo

Ingredientes (%)	Tratamentos*					
	DC	200AD1	500AD1	200AD2	500AD2	500AD3
Milheto	72,340	72,320	72,290	72,320	72,290	72,290
Farelo de Soja Semi-Int	16,500	16,500	16,500	16,500	16,500	16,500
Calcário Fino	5,700	5,700	5,700	5,700	5,700	5,700
Calcário Grosso	4,500	4,500	4,500	4,500	4,500	4,500
Premix mineral e vitamínico	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Sal	0,280	0,280	0,280	0,280	0,280	0,280
Bicarbonato de Sódio	0,120	0,120	0,120	0,120	0,120	0,120
DL-Metionina 99	0,110	0,110	0,110	0,110	0,110	0,110
L-Lisina	0,165	0,165	0,165	0,165	0,165	0,165
Cloreto de Colina	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035
Premix postura	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Aditivo 1 ¹	0,000	0,020	0,050	0,000	0,000	0,000
Aditivo 2 ²	0,000	0,000	0,000	0,020	0,050	0,000
Aditivo 3 ³	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,050
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composições nutricionais e energéticas calculadas						
EM (kcal)	2.781,280	2.781,280	2.781,280	2.781,280	2.781,280	2.781,280
Proteína Bruta (%)	16,863	16,863	16,863	16,863	16,863	16,863
Lisina Total (%)	0,844	0,844	0,844	0,844	0,844	0,844
Metionina Total (%)	0,399	0,399	0,399	0,399	0,399	0,399
Gordura Bruta (%)	4,287	4,287	4,287	4,287	4,287	4,287
Ácido linoléico (ômega 6) (%)	2,090	2,090	2,090	2,090	2,090	2,090
Fibra Bruta (%)	3,110	3,110	3,110	3,110	3,110	3,110
Amido (%)	46,046	46,046	46,046	46,046	46,046	46,046
Cinzas (%)	12,073	12,073	12,073	12,073	12,073	12,073
Cálcio (%)	4,034	4,034	4,034	4,034	4,034	4,034
Fósforo Total (%)	0,665	0,665	0,665	0,665	0,665	0,665
Fósforo Disponível (%)	0,454	0,454	0,454	0,454	0,454	0,454
Sódio (%)	0,171	0,171	0,171	0,171	0,171	0,171
Cloro (%)	0,247	0,247	0,247	0,247	0,247	0,247

*DC = Dieta controle; 200AD1 = 200g/t aditivo 1; 500AD1 = 500g/t aditivo 1; 200AD2 = 200g/t aditivo 2; 500AD2 = 500g/t aditivo 2 e AD3 = 500g/t aditivo 3.

¹Níveis de garantia: Óleo de palma, ácido cítrico (mín.) 65g/kg, ácido fumárico (mín.) 130g/kg, ácido fosfórico (mín.) 65g/kg, ácido málico (mín.) 65g/kg, ácido láurico (mín.) 120mg/kg, timol (mín.) 5g/kg, carvacrol (mín.) 5g/kg, cineol (mín.) 5g/kg.

² Níveis de garantia: Óleo de palma, ácido cítrico (mín.) 65g/kg, ácido fumárico (mín.) 130g/kg, ácido fosfórico (mín.) 65g/kg, ácido málico (mín.) 65g/kg, ácido láurico (mín.) 120mg/kg, timol (mín.) 20g/kg, carvacrol (mín.) 10g/kg.

³ Níveis de garantia: Óleo de palma, aromatizante, butirato de cálcio (mín.) 450 g/kg.

3.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

O desempenho das aves foi determinado a partir da produção de ovos, peso do ovo (g), consumo de ração (g/ave/dia), massa de ovos, conversão alimentar por dúzia de ovos (kg/dúzia), conversão alimentar por massa dos ovos (kg/kg) e viabilidade (quantidade de aves presentes/quantidade de aves alojadas x 100).

A produção de ovos em porcentagem foi calculada pela relação de números de ovos produzidos pelo número de aves alojadas x 100, o acompanhamento da produção foi realizado diariamente.

O consumo de ração foi determinado pela diferença da ração fornecida a cada início de ciclo pelo peso das sobras de ração a cada final de ciclo, a correção foi realizada pela mortalidade correspondente ao consumo real de ração.

A conversão por dúzias de ovos foi calculada dividindo o consumo de ração pelo número de dúzias de ovos produzidos, sendo corrigida pela mortalidade das aves. Para determinar o peso dos ovos, todos os ovos de cada parcela foram coletados e pesados individualmente em balança analítica de quatro dígitos (0,0001g).

A massa de ovos multiplica-se o número de ovos produzidos (produção) pelo peso médio dos ovos de cada repetição no período. A conversão alimentar por massa de ovos (kg de ração/kg de ovo) é calculada a partir da relação dos dados de consumo de ração pela massa de ovo produzida para cada repetição por período.

3.3 QUALIDADE DE OVOS

Nos três últimos dias de cada ciclo foram realizadas as avaliações de qualidade dos ovos, considerando três ovos por repetição, para análise do peso do ovo, centralização de gema, gravidade específica, percentual de gema, albúmen e casca, espessura de casca (mm), coloração da gema e Unidade Haugh (UH), pH da gema e pH do albúmen.

Para gravidade específica, baseado no princípio de Arquimedes descrito por Hempe *et al.* (1988) e o valor de GE foi obtido usando a equação: $GE = \text{peso do ovo} / (\text{peso do ovo na água} \times \text{correção da temperatura})$. E a correção da densidade da água em função da temperatura pode ser calculada da seguinte maneira: $D = (0,9998676 + 17,801161 \times 10^{-3}t - 7,942501 \times 10^{-6}t^2 - 52,56328 \times 10^{-9}t^3 + 137,6891 \times 10^{-12}t^4 - 364,4647 \times 10^{-15}t^5) / (1 + 17,735441 \times 10^{-3}t)$, em que t é a temperatura em graus Celcius (Kell, 1975).

Para a avaliação da qualidade do albúmen foi realizada com a determinação da unidade Haugh, onde os ovos serão quebrados sobre uma superfície plana e com a utilização de um paquímetro digital foi medida à altura (mm) do albúmen denso, que juntamente com o peso do ovo foram aplicados na equação: $UH = 100 \log (H - 1,7 \times P^{0,37} + 7,6)$, onde: UH = Unidade Haugh; H = altura do albúmen em mm e P = peso do ovo em g.

Logo após, a gema foi separada do albúmen e pesada em balança semi-analítica (0,0001g), sendo o seu percentual, obtido pela divisão do peso da gema pelo peso do ovo, multiplicado por 100. O percentual de albúmen foi obtido por diferença, onde: % albúmen = (% gema + % casca). O peso de albúmen determina-se a partir da diferença entre o peso do ovo subtraído o peso da gema e o peso da casca do ovo.

A cor da gema foi determinada com o uso do leque colorimétrico DSM YolkFan™ (Figura 1). O índice gema que é a razão da altura da gema pela largura de gema foi utilizado o paquímetro digital. O pH de gema e do albúmen foram determinados utilizando o pHmetro digital portátil (AKSO-AK90) (Figura 2). A centralização de gema foi obtida através de um escore visual (1 a 10) (Wesley e Stadelman, 1959).

Figura 1 - Determinação da coloração de gema com o leque colorimétrico DSM



Figura 2 - Determinação de pH de gema e albúmen com o pHmetro portátil AKSO



As cascas dos ovos foram identificadas, secas em temperatura ambiente por uma semana e pesadas em balança digital com precisão de 0,0001g para obtenção do peso médio das cascas. A percentagem da casca é determinada através da relação entre o peso médio da casca sobre o peso médio do ovo multiplicado por 100. Para obtenção da espessura a casca, foram mensuradas na região equatorial dos ovos, com o uso de micrômetro digital Mitutoyo de 0-25 mm com precisão de 0,001mm, sendo a espessura da casca a média da espessura obtida nas três regiões do ovo.

3.4 PESO E PH DOS ÓRGÃOS

Para o desenvolvimento do trato digestório foi avaliado o peso dos órgãos (moela, fígado, intestino delgado, intestino grosso, pâncreas, proventrículo e baço) e gordura celomática. Não foi realizado jejum pré-abate no intuito de coletar o conteúdo dos órgãos para mensuração de pH. As aves foram mantidas com água e ração até o momento de serem eutanasiadas (utilizou-se 5 aves por tratamento), após a morte, foi realizada a pesagem das aves utilizando balança digital de quatro dígitos (0,0001g). Para a retirada dos órgãos, a cavidade celomática foi aberta com tesouras de necrópsia, em seguida, os órgãos foram esvaziados e pesados em balança digital de quatro dígitos (0,0001g). Estes pesos compuseram o cálculo do peso relativo,

expresso em porcentagem do peso vivo, peso relativo do órgão = (peso do órgão / peso vivo) x 100 (Watanabe, 2021).

Para determinação do pH foi coletado 1g do conteúdo presente nos órgãos das aves eutanasiadas: ceco, duodeno, jejuno, íleo, moela e proventrículo. Em seguida, misturado a 30mL de água destilada em frascos plásticos (coletor universal). Os frascos foram agitados e deixados em repouso por um minuto e em seguida foi feita a leitura utilizando o pHmetro portátil (AKSO-AK90) (Coon *et al.*, 1990).

3.5 ESTUDO HISTOLÓGICO E MORFOMÉTRICO

O processamento histológico (Figura 3) foi realizado no Laboratório de Histologia (LabHis) do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia PPGZ/CCA/UFPB. As amostras biológicas de intestino (duodeno, jejuno e íleo) das cinco aves escolhidas aleatoriamente de cada tratamento foram coletadas e fixadas em Formol tamponado por 24h e posteriormente incluídas em parafina. Os cortes realizados com 5 µm de espessura e utilizou-se a coloração de hematoxilina-eosina e PAS (Periodic cid Schiff). A captura das imagens digitalizadas foi realizada em microscópio Olympus BX-60 e câmera Zeiss AxioCam acoplada com programa de captura de imagens digitais Motic Image Plus 2.0.

Figura 3 - Processamento das lâminas histológicas



As amostras de duodeno foram coletadas 4 cm depois do ventrículo; as de jejuno na região média desse segmento e o íleo no segmento final. Ambas incluídas em sentido transversal, de modo que fosse possível a visualização das vilosidades intestinais, assim como o lúmen do órgão. Posterior ao processamento histológico citado acima, em cada fragmento dos tecidos foi realizado as mensurações em 18 estruturas diferentes de cada fragmento animal, sendo elas: alturas e larguras de vilosidades, as respectivas profundidades de criptas.

As vilosidades foram mensuradas da sua base até seu ápice, a largura mensurada em três porções distintas de cada vilosidade, enquanto a profundidade de cripta mensurada a partir da base de sua respectiva vilosidade. A relação vilo:cripta é dada pela divisão da altura de vilosidade pela sua respectiva profundidade de cripta, enquanto a área da absorptiva da vilosidade será realizada pela multiplicação da altura de vilosidade pela largura.

3.6 QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS CALICIFORMES DO DUODENO, JEJUNO E ÍLEO

Para a quantificação de células caliciformes no epitélio de duodeno, jejuno e íleo foram utilizadas lâminas histológicas de 5 animais por tratamento coradas com a coloração de PAS que cora de magenta as células caliciformes. Foram captadas e digitalizadas várias imagens com a objetiva de 40x das vilosidades intestinais.

Aleatoriamente foram escolhidas pelo menos 8 mensurações de cada animal e mensurado o epitélio intestinal linearmente até perfazer 500 micrômetros. Nessas áreas lineares de epitélio mensuradas foram contabilizadas as quantidades de células caliciformes. A partir dos resultados será definida a quantidade de células caliciformes em 500 micrômetros para cada tratamento.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos aos testes de homogeneidade das variâncias e normalidade dos resíduos utilizando-se o SAS Ondemand. Atendido os pressupostos as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de desempenho zootécnico (Tabela 2), mostram que houve diferença significativa para a produção de ovos e o peso do ovo. Não houve influência dos tratamentos para o consumo de ração, massa de ovo, conversão por massa de ovo, conversão por dúzia de ovos e viabilidade.

Tabela 2. Desempenho zootécnico da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade

Tratamentos*	Variáveis**						
	CR (g/ave/dia)	PR (%)	PO (g)	MO (g)	CAM (g/g)	CADZ (g/dúzia)	VIAB (%)
DC	118,73	91,48ab	62,44ab	57,08	2,12	1,57	97,00
200AD1	119,16	91,54ab	63,20a	57,09	2,11	1,59	98,00
500AD1	119,11	91,93a	62,52ab	57,44	2,10	1,58	98,00
200AD2	119,02	89,89b	62,45ab	56,49	2,11	1,57	98,00
500AD2	119,92	92,13a	62,09b	57,09	2,14	1,59	100,00
AD3	121,71	90,63ab	62,81ab	56,93	2,13	1,61	98,00
C.V.	1,95	1,54	1,03	1,70	3,10	2,78	4,90
P-valor	0,0647	0,0067	0,0097	0,4264	0,6734	0,2462	0,8345
EQM	0,9100	0,0332	0,0070	0,0157	<,0001	<,0001	0,3858

a,b Dentro de uma coluna, números com letras diferentes diferem estatisticamente em 5%.

*DC = Dieta controle; 200AD1 = 200g/t aditivo 1; 500AD1 = 500g/t aditivo 1; 200AD2 = 200g/t aditivo 2; 500AD2 = 500g/t aditivo 2 e AD3 = 500g/t aditivo 3. **CR = Consumo de Ração; PR = Produção de ovos; PO = Peso do ovo; MO = Massa de ovo; CAM = Conversão por massa de ovo; CADZ = Conversão por dúzia de ovo; VIAB = Viabilidade.

A produção de ovos foi influenciada pelos tratamentos, destacando-se os tratamentos com maiores doses de 500AD1 e 500AD2. Wang *et al.* (2019), encontraram dados significativos com a inclusão de ácidos encapsulados nas dietas de galinhas, no qual a suplementação apresentou maiores valores de produção de ovos em relação ao grupo controle. Esse aumento na produção de ovos pode estar ligado a melhor digestibilidade e absorção dos nutrientes em razão da maior área de absorção (vilosidades) promovida pelos ácidos e óleos essenciais (Zhang *et al.*, 2022). A produção anual de uma galinha doméstica gira em torno de 300 ovos, no qual a formação do ovo dura em média 25h e depende de uma boa alimentação e de um programa de luz adequado (Floriano, 2013).

Em relação ao peso do ovo, destaca-se o tratamento 200AD1 que apresentou maior média de peso, resultados diferem de outros estudos (Soltan, 2008; Ding *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2022), nos quais as suplementações de ácidos e óleos essenciais não influenciaram no peso do ovo. Os resultados deste trabalho mostram divergências com os

encontrados na literatura e isso pode estar relacionado as dosagens dos tratamentos ou composição dos ácidos e óleos essenciais (Ding *et al.*, 2017). No manual da linhagem Novogen Brown, o peso médio esperado é 60,90g com 46 semanas de idade e todos os tratamentos do presente estudo apresentaram médias maiores.

Os resultados referentes a qualidade de ovos (Tabela 3) demonstram que não houve diferença significativa para centralização de gema, Unidade Haugh, percentual de gema e albúmen. Entretanto, os tratamentos influenciaram a cor da gema, espessura de casca, índice gema, gravidade específica, percentual de casca, pH de gema e de albúmen.

Tabela 3. Qualidade de ovos da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade

Tratamentos*	Variáveis**										
	CG	COR	EC (mm)	UH	IG	GE (g/cm ³)	PRC (%)	PRG (%)	PRA (%)	pH_G	pH_A
DC	4,83	10,29c	0,403b	89,62	0,418b	1,081a	10,41a	25,44	64,16	5,98ab	8,45b
200AD1	4,77	10,32bc	0,402b	89,78	0,421ab	1,076b	10,40a	25,68	64,01	6,00ab	8,04e
500AD1	4,79	10,34bc	0,402b	89,87	0,425ab	1,072c	10,39a	25,48	64,05	5,95b	8,21d
200AD2	4,67	10,50b	0,408a	89,54	0,426a	1,072c	10,35ab	25,56	64,07	5,92b	8,34c
500AD2	4,79	10,34bc	0,401b	90,06	0,428a	1,069d	10,34ab	25,65	63,94	6,07a	8,33c
AD3	4,84	11,73a	0,398b	90,56	0,422ab	1,068d	10,25b	25,88	64,00	5,94b	8,53a
C.V.	3,7492	1,5657	1,0442	0,9997	1,4248	0,2642	0,9482	1,3404	0,5750	1,4436	0,9021
P-valor	0,3536	<,0001	0,0001	0,1475	0,0054	<,0001	0,0089	0,0711	0,8452	0,0043	<,0001
EQM	<,0001	<,0001	<,0001	0,013	<,0001	<,0001	<,0001	0,0019	0,0022	<,0001	<,0001

a,b Dentro de uma coluna, números com letras diferentes diferem estatisticamente em 5%.

*DC = Dieta controle; 200AD1 = 200g/t aditivo 1; 500AD1 = 500g/t aditivo 1; 200AD2 = 200g/t aditivo 2; 500AD2 = 500g/t aditivo 2 e AD3 = 500g/t aditivo 3. **CG = Centralização de gema; COR = Cor de gema; EC = Espessura de casca; UH = Unidade Haugh; IG = Índice gema; GE = Gravidade específica; PRC = Percentual de casca; PRG = Percentual de gema; PRA = Percentual de albúmen; pH_G = pH de gema; pH_A = pH de albúmen.

Observou-se que a Unidade Haugh não foi influenciada pelos tratamentos, estes achados estão conforme os resultados encontrados por Wang *et al.* (2019). Estudos mostram que a adição de óleos essenciais pode retardar os efeitos negativos do estresse oxidativo, obtendo um produto com maior tempo de prateleira. Cirim *et al.* (2020), identificaram que a suplementação de óleos essenciais reduziu a incidência de peroxidação lipídica no ovo durante o armazenamento ao inibir os radicais livres. Zhang *et al.* (2023), observaram que os óleos essenciais são benéficos para a formação da albumina.

A cor da gema foi influenciada pelos tratamentos, observa-se que o AD3 apresentou uma coloração mais intensa que aos demais tratamentos, em razão da composição do aditivo que apresenta o butirato que atua no desenvolvimento das vilosidades que melhora a absorção de

pigmentos oriundos dos ingredientes da dieta. Saminathan *et al.* (2020) afirma que os óleos essenciais contêm carotenoides, pigmentos oriundos das plantas que são direcionados para a gema do ovo, tornando-a mais alaranjada.

Houve diferença significativa para espessura de casca, em que o 200AD2 foi o melhor em comparação com os demais tratamentos. Esses resultados são encontrados na literatura (Song *et al.*, 2020; Ramirez, Peñuela-Sierra e Ospina, 2021), nos quais afirmaram que a inclusão de ácidos e óleos essenciais melhoram a qualidade da casca do ovo, reduzindo as perdas por ovos trincados ou quebrados. O peso da casca também foi influenciado pelos tratamentos. Miao *et al.* (2021), relataram que inclusão de ácidos nas dietas de poedeiras pode melhorar a atividade enzimática, havendo uma melhor digestão que resulta na absorção dos nutrientes de forma mais eficiente. O útero tem função de formar a casca do ovo, onde este permanece por 18 a 22h e recebe uma cobertura de carbonato de cálcio, proteínas, pigmentos, cutículas e outros componentes da casca (Floriano, 2013).

Os resultados de gravidade específica mostram diferença significativa, em que alguns tratamentos foram semelhantes entre si e menores que o grupo controle. Estes dados diferem dos achados de Migliorini *et al.* (2019), em que encontraram valores de gravidade específica maiores que o deste estudo, aproximadamente de 1,089 a 1,093 g/cm³ com inclusão de óleos essenciais nas dietas das aves. A gravidade específica ideal é acima de 1,085 g/cm³ e isso garante que com maior gravidade específica, será maior a densidade da casca e, resultando, em uma melhor resistência de casca (Peebles e McDaniel, 2004). Os valores baixos deste trabalho podem estar associados as dosagens dos tratamentos.

Neste estudo, foi observado influência da suplementação nas variáveis de pH da gema e do albúmen. Conforme Feddern *et al.* (2017) um ovo posto apresenta de pH ideal para albúmen de 7,6 a 7,9 e de gema 6,0. Seguindo esses valores como esperados, percebe-se que os tratamentos para pH de gema que mostraram resultados satisfatórios foram o 200AD1 e 500AD2 e para pH de albúmen, destacam-se os tratamentos 200AD1 e 500AD1. O ácido carbônico se dissocia formando água e gás carbônico, o gás carbônico passa para o meio externo através dos poros, aumentando o pH do albúmen e tornando-o mais fluído (Solomon, 1997).

O índice gema foi influenciado pela suplementação, e observa-se que o grupo controle foi o que apresentou menor resultado. Segundo Alves *et al.* (2017), os valores ideais de índice de gema estão entre 0,390 e 0,450. Quando é reduzida, a qualidade é inferior em função do enfraquecimento da membrana da gema que se rompe e ocorre um esvaziamento do conteúdo.

Em relação aos pesos dos órgãos (Tabela 4), houve diferença significativa para gordura celomática, pâncreas, proventrículo e baço. Os tratamentos não influenciaram o peso da moela, fígado, intestino delgado e intestino grosso.

Tabela 4. Peso dos órgãos e gordura celomática da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade

Tratamentos*	Variáveis**							
	PRM (%)	PRF (%)	PRID (%)	PRIG (%)	PRG (%)	PRP (%)	PRPV (%)	PRB (%)
DC	2,14	2,10	3,28	1,00	6,3407a	0,2100b	0,4571c	0,1044b
200AD1	2,27	2,01	2,97	1,02	5,3112ab	0,2046b	0,4817bc	0,1073b
500AD1	1,91	1,97	2,97	1,00	4,7185ab	0,2021b	0,6030bc	0,1041b
200AD2	2,36	2,11	3,45	0,97	5,0231ab	0,2242b	0,7189ab	0,1187a
500AD2	1,92	1,99	2,94	0,99	5,6364ab	0,2077b	0,6860abc	0,1074b
AD3	2,31	2,10	3,04	1,07	3,8840b	0,2628a	0,8641a	0,1284a
C.V.	11,8336	6,1202	8,5852	8,0078	19,8216	5,7095	21,6182	6,3455
P-valor	0,0323	0,3202	0,0462	0,5037	0,0197	<,0001	0,0007	<,0001
EQM	0,002	0,0005	0,002	0,0002	0,0347	<,0001	0,0006	<,0001

a,b Dentro de uma coluna, números com letras diferentes diferem estatisticamente em 5%.

*DC = Dieta controle; 200AD1 = 200g/t aditivo 1; 500AD1 = 500g/t aditivo 1; 200AD2 = 200g/t aditivo 2; 500AD2 = 500g/t aditivo 2 e AD3 = 500g/t aditivo 3. **PRM = Peso relativo moela; PRF = Peso relativo fígado; PRID = Peso relativo intestino delgado; PRIG = Peso relativo intestino grosso; PRG = Peso relativo gordura; PRP = Peso relativo pâncreas; PRPV = Peso relativo proventrículo; PRB = Peso relativo baço.

Segundo Sakomura *et al.* (2014), o fígado tem como funcionalidade o armazenamento de carboidratos, gorduras e vitaminas e produção de bile. Quando o carboidrato está em excesso, é transformado em gordura e estocado no fígado. Apesar que os resultados não demonstraram aumento de peso do fígado, é observado que a gordura celomática houve aumento no peso, e que pode estar relacionado com os níveis energéticos das dietas e a época do ano. De acordo com Kolani *et al.* (2019), ao avaliarem diferentes níveis de inclusão de óleo de palma em galinhas Isa Brown com 55 semanas de idade, observaram que a suplementação de óleo de palma (2%) apresentou altas taxas de postura, baixo peso dos ovos, baixo peso do fígado e baixa conversão alimentar.

O peso da moela pode ser uma indicação de desenvolvimento muscular que influencia no tamanho das partículas e na absorção dos nutrientes. O estudo de Adewole, Olakadun e Santin (2021) observou aumento do peso da moela e relacionou com a digestibilidade dos nutrientes e a secreção de enzimas, favorecendo a capacidade do órgão em aumentar o tempo e ação das enzimas no conteúdo alimentar. Entretanto, os mesmos autores não acharam diferenças para o

peso relativo do baço relacionando a imunidade da ave. Diferentemente do presente estudo em que se observa que os tratamentos com 200AD2 e AD3 apresentaram maiores médias para peso de baço e não houve diferença para o peso da moela.

O tratamento com AD3 apresentou maior peso relativo do pâncreas, o que pode aumentar a capacidade do órgão em secretar enzimas para a digestão das partículas beneficiando a absorção. Segundo Sakomura *et al.* (2014), o pâncreas é responsável por produzir o suco pancreático que contém enzimas que digerem carboidratos, proteínas e gorduras. Miao *et al.* (2021), relataram maior atividade enzimática nas aves em função da suplementação de ácidos que contribuem na absorção intestinal. O AD3 apresentou maior média de peso do proventrículo, portanto melhorando a digestão da dieta.

Observou-se menor peso relativo de gordura celomática no tratamento AD3, ao contrário do grupo controle, evidenciando que o desenvolvimento do TGI através da suplementação promoveu maior digestão de gorduras e menor deposição de gordura nas aves. Segundo Pinheiro *et al.* (2020), os maiores valores de gordura celomática estão relacionados aos altos níveis energia dietética, resultando em um acúmulo de gordura abdominal devido ao excesso de energia no organismo da ave, o que pode acarretar menor produção de ovos.

Estudo de Watanabe (2021), avaliou o anacardato de cálcio associado com o ácido cítrico em dietas para galinhas poedeiras e observou que o peso relativo da moela, fígado, intestino, cecos e sistema reprodutor não foram influenciados pelos aditivos. Evidenciando divergências de resultados possivelmente pelas dosagens e composições dos aditivos.

Os dados de pH dos órgãos (Tabela 5) demonstraram diferença significativa para pH do ceco e duodeno. O pH do íleo, jejuno, moela e proventrículo não apresentaram diferenças estatísticas.

Tabela 5. pH dos órgãos da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade

Tratamentos*	Variáveis**					
	pH_C	pH_D	pH_I	pH_J	pH_M	pH_P
DC	7,40a	6,28ab	7,24	6,30	5,08	5,20
200AD1	7,50a	6,46a	7,52	6,46	5,14	5,08
500AD1	6,94b	6,30ab	7,24	6,28	4,26	4,46
200AD2	7,40a	6,28ab	6,98	6,60	4,60	4,96
500AD2	7,34a	6,16ab	7,44	6,44	4,46	4,70
AD3	7,44a	6,04b	7,34	6,32	4,96	4,86
C.V.	1,95	2,63	7,36	3,25	12,96	14,02
P-valor	<,0001	0,0127	0,6857	0,1608	0,1684	0,5838
EQM	0,0006	0,0009	0,0096	0,0014	0,0126	0,0155

a,b Dentro de uma coluna, números com letras diferentes diferem estatisticamente em 5%.

*DC = Dieta controle; 200AD1 = 200g/t aditivo 1; 500AD1 = 500g/t aditivo 1; 200AD2 = 200g/t aditivo 2; 500AD2 = 500g/t aditivo 2 e AD3 = 500g/t aditivo 3. **pH_C = pH do ceco; pH_D = pH do duodeno; pH_I = pH do íleo; pH_J = pH do jejuno; pH_M = pH da moela; pH_P = pH do proventrículo.

Os resultados deste estudo diferem da literatura, segundo Watanabe (2021), ao avaliar a suplementação de anacardato de sódio com ácido cítrico em dietas para poedeiras, observou que não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados para os valores de pH do papo, moela, duodeno, jejuno, íleo e cecos. Concluindo que as adições dos ácidos, nos diferentes níveis, não proporcionaram alterações no conteúdo do trato gastrointestinal das aves.

Conforme Khan *et al.* (2020), o pH ideal para o desenvolvimento de microbiota benéfica e atividade enzimática em alguns segmentos. Portanto, para o duodeno, jejuno e íleo é em torno de 6; o proventrículo 4,2; a moela 3,5 e ceco 6,3. Observa-se que os valores encontrados no presente estudo estão acima dos que eram esperados pela literatura, entretanto, é relatado que o pH do suco gástrico é menor que o pH do conteúdo (Reece, 2017; Araújo e Zanneti, 2019). Então, este aumento do pH pode estar relacionado com o tipo de alimento e não com os produtos, visto que na literatura é observado que os ácidos reduzem o pH.

Menten *et al.* (2014), a diminuição do valor de pH tem a capacidade de ampliar a atividade proteolítica, colaborando, assim, para uma melhor eficiência da digestão e absorção das proteínas e aminoácidos.

Na histologia de duodeno (Tabela 6), houve diferença estatística para largura de vilo, altura de vilo, profundidade de cripta, vilo:cripta, área absortiva e células caliciformes. A dieta controle apresentou maiores valores de largura de vilo, profundidade de cripta e área absortiva. Para altura de vilo e relação vilo:cripta, o tratamento 500AD2 apresentou maiores médias, já o

tratamento 200AD2 obteve valores superiores de células caliciformes. O 500AD1 e 500AD2 destacaram-se em altura de vilo, relação vilo:cripta e área absortiva.

Tabela 6. Histomorfometria de duodeno da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade

Tratamentos*	Variáveis**					
	LV (μm)	AV (μm)	PC (μm)	VC (μm)	AA (μm^2)	CC
DC	273,94a	1383,57b	119,29a	11,67c	3792ab	49,77a
200AD1	265,50ab	1455,62b	88,16b	16,53b	3860ab	39,65c
500AD1	249,74b	1655,65a	86,27b	19,18a	4139a	48,95ab
200AD2	245,24b	1366,87b	83,85b	16,36b	3352b	50,52a
500AD2	225,11c	1618,65a	79,17b	20,55a	3644ab	47,92ab
AD3	216,33c	1227,28c	77,75b	15,81b	2655c	46,25b
C.V.	5,66	6,24	7,10	8,54	8,93	12,44
P-valor	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
EQM	6,478	273,560	1,334	0,067	<,0001	0,1477

a,b Dentro de uma coluna, números com letras diferentes diferem estatisticamente em 5%.

*DC = Dieta controle; 200AD1 = 200g/t aditivo 1; 500AD1 = 500g/t aditivo 1; 200AD2 = 200g/t aditivo 2; 500AD2 = 500g/t aditivo 2 e AD3 = 500g/t aditivo 3. **LV = Largura de vilo; AV = Altura de vilo; PC = Profundidade de cripta; VC = Vilo:cripta; AA = Área absortiva e CC = células caliciformes.

Quando a profundidade de cripta é alta, indica que houve uma constante renovação celular que demanda energia para ser realizadas. A relação desejável entre as vilosidades e criptas intestinais acontece quando as vilosidades são altas e as criptas são rasas, pois quanto maior for a relação altura das vilosidades: profundidade da cripta, melhor será a absorção de nutrientes e menores serão as perdas energéticas com a renovação celular (Li, 1991; Nabuus, 1995). De acordo com Wang *et al.* (2022), para aumentar significativamente a proporção entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas no duodeno, é necessário o aumento da altura das vilosidades e a diminuição da profundidade das criptas.

As moléculas chegam parcialmente degradadas no intestino delgado, que sofrem ação de enzimas produzidas pelo pâncreas reduzindo em partículas menores e de melhor absorção para as células intestinais, os enterócitos. As vilosidades intestinais são projeções da mucosa, que são revestidos por epitélio superficial constituído por células intercaladas entre si: células absortivas (ou enterócitos) e células caliciformes (produtoras de muco) (Abrahamsohn, 2016).

Os enterócitos atuam no processo de absorção de monossacarídeos, lipídios e aminoácidos e as células caliciformes secretam um muco de consistência viscosa, rico em glicoproteínas ácidas que conferem ao produto ação protetora e lubrificante. As vilosidades do

duodeno são mais longas e estreitas; o epitélio gradualmente apresenta mais células caliciformes quanto mais próximo ao intestino grosso (Aarestrup, 2012).

Wang *et al.* (2019), avaliaram a suplementação de ácidos microencapsulados com óleos essenciais em dietas para galinhas poedeiras e observaram que houve um aumento de vilosidades no intestino, demonstrando um efeito significativo na morfologia do intestino posterior, principalmente porque o produto é revestido para proteger a atividade biológica e a liberação direcionada.

Stamilla *et al.* (2020), identificaram alterações morfológicas favoráveis no intestino das galinhas suplementadas com ácidos e óleos essenciais, apresentando maior número de vilosidades no duodeno e maior altura e largura das vilosidades no íleo, juntamente com mucosa mais espessa e maior área de vilosidades.

Os dados foram significativos para a histomorfometria de jejuno (Tabela 7), nas variáveis largura do vilo, altura do vilo, profundidade de cripta, relação vilo:cripta, área absortiva e células caliciformes. Para área absortiva observa-se que os tratamentos com AD2 (500g/t) demonstraram médias superiores. Para células caliciformes, todos os tratamentos com os aditivos foram superiores ao grupo controle. O tratamento 500AD2 apresentou resultados melhores para altura de vilo, profundidade de cripta, relação vilo:cripta e célula caliciformes.

Tabela 7. Histomorfometria de jejuno da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade

Tratamentos*	Variáveis**					
	LV (μm)	AV (μm)	PC (μm)	VC (μm)	AA (μm^2)	CC
DC	157,00b	1169,88a	80,90a	14,51b	1839ab	47,52b
200AD1	177,71a	955,83bc	81,82a	11,69c	1697abc	55,05a
500AD1	179,89a	894,59c	75,52b	11,85c	1602bc	53,35a
200AD2	178,32a	1012,44b	69,96c	14,48b	1805ab	54,60a
500AD2	157,97b	1213,95a	73,55bc	16,51a	1914a	51,80a
AD3	132,65c	1139,91a	80,80a	14,16b	1510c	51,65a
C.V.	7,06	6,56	4,16	8,57	8,44	10,92
P-valor	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0016	<,0001
EQM	4,465	162,76	344,44	0,047	<,0001	0,1362

a,b Dentro de uma coluna, números com letras diferentes diferem estatisticamente em 5%.

*DC = Dieta controle; 200AD1 = 200g/t aditivo 1; 500AD1 = 500g/t aditivo 1; 200AD2 = 200g/t aditivo 2; 500AD2 = 500g/t aditivo 2 e AD3 = 500g/t aditivo 3. **LV = Largura de vilo; AV = Altura de vilo; PC = Profundidade de cripta; VC = Vilo:cripta; AA = Área absortiva e CC = células caliciformes.

Segundo Reece (2017), as criptas são revestidas por enterócitos que apresentam microvilosidades em sua superfície apical, aumentando consideravelmente a sua área de superfície. Auxilia na secreção de cloreto, sódio e água dentro do lúmen da cripta para facilitar a absorção pelos enterócitos absorptivos na vilosidade.

Dentre os segmentos intestinais, o jejuno se destaca em tamanho e ocorre a maior parte da absorção dos nutrientes, água e íons. A absorção acontece mais eficiente quando a área de superfície absorptiva é maior, essa capacidade estar relacionada com a altura e largura das vilosidades (Walton *et al.*, 2016).

Foi observado que o número de células caliciformes neste presente estudo é maior no jejuno e íleo quando comparados com o duodeno, havendo então uma maior produção de muco e liberação de mucina nestes compartimentos que servem de proteção contra secreções enzimáticas ou efeitos da digesta. De acordo com Aarestrup (2012), o epitélio gradualmente apresenta mais células caliciformes quanto mais próximo ao intestino grosso.

Os dados foram significativos para histologia de íleo (Tabela 8) para as variáveis largura de vilo, altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta. Os tratamentos 500AD1 e 200AD2 apresentaram maiores médias para largura de vilo. Para células caliciformes e área absorptiva não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Tabela 8. Histomorfometria de íleo da suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados em dietas de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade

Tratamentos*	Variáveis**					
	LV (μm)	AV (μm)	PC (μm)	VC (μm)	AA (μm^2)	CC
DC	153,53b	455,29d	66,34b	6,87d	6991	56,62
200AD1	133,43c	505,51c	73,39a	6,90d	6767	55,67
500AD1	172,54a	395,47e	63,46b	6,27d	6832	56,90
200AD2	178,45a	446,48d	55,92c	7,99c	7963	55,05
500AD2	112,74d	608,41b	46,69d	13,04a	6879	54,89
AD3	118,24d	663,27a	58,21c	11,42b	7840	57,63
C.V.	6,96	6,14	5,63	7,73	11,32	8,54
P-valor	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0887	0,0767
EQM	3,393	33,091	389,5	0,015	222,4	0,0973

a,b Dentro de uma coluna, números com letras diferentes diferem estatisticamente em 5%.

*DC = Dieta controle; 200AD1 = 200g/t aditivo 1; 500AD1 = 500g/t aditivo 1; 200AD2 = 200g/t aditivo 2; 500AD2 = 500g/t aditivo 2 e AD3 = 500g/t aditivo 3. **LV = Largura de vilo; AV = Altura de vilo; PC = Profundidade de cripta; VC = Vilo:cripta; AA = Área absorptiva e CC = células caliciformes.

O número de células caliciformes é reduzido nas extremidades das vilosidades; mas a densidade das células caliciformes é duas a três vezes maior no íleo, em comparação com o duodeno (Eurell e Frappier, 2012). Em razão desta maior quantidade, a produção de muco é aumentada e seus benefícios envolve proteção mecânica e patogênica.

As médias de células caliciformes no íleo entre os tratamentos foram semelhantes, porém numericamente se comparado com as médias de jejuno e duodeno, o íleo se destaca. A mucina produzida pelas células caliciformes ajuda a neutralizar o pH do conteúdo, reduz os impactos mecânicos e serve como barreira para os microrganismos não se aderir na parede intestinal (Maiorka, 2004). A submucosa do íleo contém agregados peculiares de linfócitos B e T, macrófagos e células dendríticas, conhecidos como placas de Peyer, apresentam um tecido linfóide associado a mucosa (MALT) e são responsáveis pelo sistema imune do lúmen intestinal, facilitando a geração de respostas imunes na mucosa (Reece, 2017).

O aumento da espessura da mucosa intestinal está correlacionado com o aumento da função digestiva e absorativa do intestino delgado devido ao aumento da área de superfície absorativa (Arslan, 2022). A parte superior do íleo é o principal local de absorção dos produtos da digestão de gorduras, carboidratos e proteínas (Rowe, 2020).

O estudo de Miao et al. (2021), relata que o uso de ácidos melhorou a razão entre alturas de vilosidades e profundidade de criptas, promovendo uma absorção mais eficiente sendo os recursos direcionados para a produção e qualidade de ovos. Shahir *et al.* (2012), relataram que a suplementação de ácidos melhorou a qualidade da casca dos ovos de galinhas poedeiras. De acordo com Sakomura *et al.* (2014), os ácidos orgânicos ajudam na disponibilidade de alguns minerais como o cálcio, ferro, cobre e magnésio. O cálcio participa em grande proporção da formação da casca do ovo.

5 CONCLUSÃO

A suplementação de ácidos orgânicos e compostos fenólicos microencapsulados na dosagem de 500g/t do AD2 nas dietas de galinhas poedeiras mostrou-se mais eficaz para manter o desempenho zootécnico, qualidade de ovos, desenvolvimento dos órgãos e morfologia intestinal.

REFERÊNCIAS

- ABDELLI, N., FRANCISCO PÉREZ, J., VILARRASA, E., MELO-DURAN, D., CABEZA LUNA, I., KARIMIRAD, R., SOLÀ-ORIOL, D. Microencapsulation Improved Fumaric Acid and Thymol Effects on Broiler Chickens Challenged With a Short-Term Fasting Period. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.686143>
- ABDEL-WARETH, A. A. A. Effect of dietary supplementation of thymol, synbiotic and their combination on performance, egg quality and serum metabolic profile of Hy-Line Brown hens, **British Poultry Science**, v. 57, n. 1, p. 114-122, 2016. DOI: 10.1080/00071668.2015.1123219
- ABRAHAMSOHN, P. **Histologia**. Grupo GEN, 2016. E-book. ISBN 9788527730105. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527730105/>. Acesso em: 21 jan. 2024.
- ALBINO, L. F. T.; BARROS, V. R. S. M. de; MAIA, R. C.; TAVERNARI, F. de C.; SILVA, D. L. da. **Produção e nutrição de frangos de corte**. Viçosa: Ed. UFV, 2017.
- ALBINO, L. F. T.; CARVALHO, B. R.; MAIA, R. C.; BARROS, V. R. S. M.; TAVERNARI, F. C.; COSTA, F. G. P.; STRINGHINI, J. H. **Galinhas poedeiras: criação e alimentação**. Viçosa: Aprenda fácil. 376 f. 2014.
- ADEWOLE, D. I., OLADOKUN, S., SANTIN, E. Effect of organic acids-essential oils blend and oat fiber combination on broiler chicken growth performance, blood parameters, and intestinal health. **Animal nutrition** (Zhongguo xu mu shou yi xue hui), v. 7, n. 4, p. 1039–1051, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.02.001>
- ALVES, D. A.; DE AVILA, V. S.; DA SILVA, S. N.; FORGIARINI, J.; CONTREIRA, C. L.; XAVIER, E. G.; EDUARDO GONÇALVES XAVIER, U. **Efeito da nutrição de poedeiras sobre os parâmetros da qualidade interna de ovos comerciais armazenados em diferentes temperaturas**, 2017.
- ARAÚJO, L. F.; ZANETTI, M. A. **Nutrição animal**. Editora Manole, 2019. E-book. ISBN 9788520463499. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520463499/>. Acesso em: 08 dez. 2023.
- AARESTRUP, B. J. **Histologia Essencial**. Grupo GEN, 2012. E-book. ISBN 978-85-277-2145-5. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2145-5/>. Acesso em: 12 jan. 2024.
- ARSLAN, C. et al. Dietary encapsulated essential oil mixture influence on apparent nutrient digestibility, serum metabolic profile, lymphocyte histochemistry and intestinal morphology of laying hens. **Animal Bioscience**, v. 35, n. 5, p. 740, 2022.
- CHENG, H.; CHEN, J. F.; TANG, S. G.; GUO, S. C.; HE, C. Q.; QU, X. Y. Effects of essential oil/palygorskite composite on performance, egg quality, plasma biochemistry, oxidation status, immune response and intestinal morphology of laying hens. **Poultry science**, v. 101, n. 4, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101632>
- CHO, J. H.; KIM, I. H. Effects of microencapsulated organic acids and essential oils on growth performance and intestinal flora in weanling pigs. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 28, n. 3, p. 229–237, 2015. DOI: 10.17533/udea.rccp.324928. Disponível em:

<https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/324928>. Acesso em: 23 out. 2023.

CIMRIN, T.; TUNCA, R. I.; AVSAROGLU, M. D.; AYASAN, T.; KÜÇÜKERSAN, S. Effects of an antibiotic and two phytogetic substances (cinnamaldehyde and 1,8-cineole) on yolk fatty acid profile and storage period-associated egg lipid peroxidation level. **Revista Brasileira De Zootecnia**, v. 49, 2020. DOI: <https://doi.org/10.37496/rbz4920190270>

COON, C.N.; LESKE, K.L.; AKAVANICHAN, O.; CHENG, T.K. Effect of oligosaccharide-free soybean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. **Poult. Sci.**, v. 69, p. 787-793, 1990.

DAI, D.; QI, G. H.; WANG, J.; ZHANG, H. J.; QIU, K., WU, S. G. Intestinal microbiota of layer hens and its association with egg quality and safety. *Poultry science*, v. 101, n. 9, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102008>

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **The Journal of Applied Poultry Research**, Oxford, v. 11, p. 453-463, 2002.

DING, X.; YU, Y.; SU, Z.; ZHANG, K. Effects of essential oils on performance, egg quality, nutrient digestibility and yolk fatty acid profile in laying hens. *Animal Nutrition*, v. 3, n. 2, p. 127-131, 2017.

DRABIK, K.; JUSTYNA, B.; TOMASZ, P.; BEATA, H. Citric acid as a factor limiting changes in the quality of table eggs during their storage *Poult. Sci.*, v. 100, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.01.018>

DU, X.; XIANG, Y.; LOU, F.; TU, P.; ZHANG, X.; HU, X.; LYU, W.; XIAO, Y. Microbial Community and Short-Chain Fatty Acid Mapping in the Intestinal Tract of Quail. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 1006, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10061006>

ESPÍNDOLA, G. B. **Nutrição de animais monogástricos de produção**. 1. ed. Fortaleza: Expressão gráfica e editora, 2016.

EURELL, J. A.; FRAPPIER, B. L. **Histologia veterinária de Dellmann**. – 6aEd. Editora Manole, 2012. E-book. ISBN 9788520455722. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520455722/>. Acesso em: 12 jan. 2024.

FACCHI, C. S.; VALENTINI, F. D. A.; PAGNUSSATT, H.; LEITE, F.; DAL SANTO, A.; ANIECEVSKI, E.; ROSSATO, G.; ZACCARON, G.; ALBA, D. F.; MILARCH, C. F.; PETROLI, R. R.; GALLI, G. M.; DA SILVA, A. S.; TAVERNARI, F. C.; PETROLI, T. G. Effects of microencapsulated carvacrol and cinnamaldehyde on feed digestibility, intestinal mucosa, and biochemical and antioxidant parameters in broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 52, 2022. DOI: <https://doi.org/10.37496/rbz5220220079>

FEDDERN, V.; PRÁ, M. C. D.; MORES, R.; NICOLOSO, R. DA S.; COLDEBELLA, A.; ABREU, P. G. de. Egg quality assessment at different storage conditions, seasons and laying hen strains. *Ciência E Agrotecnologia*, v. 41, n. 3, p. 322–333. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-70542017413002317>

FERNANDES, R. T. V.; et al. Aditivos fitogênicos na alimentação de frangos de corte: óleos essenciais e especiarias. **PubVet**, v. 9, p. 502-557, 2015.

FLORIANO, L. S. **Anatomia e fisiologia das aves domésticas**. 1.ed. Urutaí: IF Goiano. 94p, 2013.

FUNARI JUNIOR, P. et al. Efeitos da utilização de ácidos orgânicos em rações de frangos decorte. **PUBVET**, Londrina, v. 5, n. 25, Ed. 172, Art. 1159, 2011.

GAO, Y.; et al. Encapsulated blends of essential oils and organic acids improved performance, intestinal morphology, cecal microflora, and jejunal enzyme activity of broilers. *Czech J. Anim. Sci.*, v. 64, p. 189-198, 2019.

GHOLAMI-AHANGARAN, M.; AHMADI-DASTGERDI, A.; AZIZI, S.; BASIRATPOUR, A.; ZOKAEI, M.; DERA KHSHAN, M. Thymol and carvacrol supplementation in poultry health and performance. *Veterinary medicine and science*, v. 8, n. 1, p. 267–288, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/vms3.663904-6>

GUL, M.; TUNÇ, M.; CETIN, S.; YILDIZ, A. Effect of organic acids in diet on laying hens' performance, egg quality indices, intestinal microflora, and small intestinal villi height. *Archiv fur Geflugelkunde*. v. 77, 2013. DOI: 10.1399/eps.2013.5.

HEMPE, J.K.; LAUXWN, R.C.; SAVAGE, J.E. Rapid determination of egg weight and specific gravity using a computerized data collection system. **Poultry Science**, v.67, p.902-907, 1988.

ISHAK, K., et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. **Journal of Hepatology**, v. 22, p. 696-699, 1995.

ISLAM, Z. et al. Effect of Organic Acids Blend, Micro- Encapsulated Phyto-Essential Oils Individually or in Combination on Growth Performance, Gut Health and Nutrients Utilization of Broilers. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 54, n. 5, p. 2391–2399, 2022.

IZUDDIN, W. I.; LOH, T. C.; AKIT, H.; NAYAN, N.; NOOR, A. M.; FOO, H. L. Influence of Dietary Palm Oils, Palm Kernel Oil and Soybean Oil in Laying Hens on Production Performance, Egg Quality, Serum Biochemicals and Hepatic Expression of Beta-Carotene, Retinol and Alpha-Tocopherol Genes. **Animals : an open access journal from MDPI**, v. 12, n. 22, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani12223156>

JASIM, M. S.; TAHA, A. Y. Effect of supplemenation of probiotic and citric acid to laying hens diet on eggs quality traits”, **iraqi journal of agricultural sciences**, v. 48, n. 2, 2017. DOI: 10.36103/ijas.v48i2.426.

JADHAO, G. M.; SAWAI, D.; REWATKAR, H. N.; KOLHE, R.; BANSOD, A.; NANDESHWAR, J. Effect of organic acids with probiotic supplementation on immunity and blood biochemical status of broiler chicken. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 8, n. 02, p. 1952-1959, 2019. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.802.227>

JOHNSON, C. N., ARSENAULT, R. J., PIVA, A., GRILLI, E., & SWAGGERTY, C. L. A microencapsulated feed additive containing organic acids and botanicals has a distinct effect on proliferative and metabolic related signaling in the jejunum and ileum of broiler chickens. **Frontiers in physiology**, v. 14, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1147483>

KELL, G.S. Density, thermal expansivity, and compressibility of liquid water from 0°C to 150°C: correlations and tables for atmospheric pressure and saturation reviewed and

expressed on 1968 temperature scale. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v.20, p.97-105, 1975.

KHAN, R. U. et al. Prospects of organic acids as safe alternative to antibiotics in broiler chickens diet. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 22, p. 32594–32604, 2022.

KHAN, S. H.; IQBAL, J. Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. **Journal of Applied Animal Research**, v. 44, n. 1, p. 359–369, 2016.

KHAN, S.; MOORE, R. J.; STANLEY, D.; CHOUSALKAR, K. K. The Gut Microbiota of Laying Hens and Its Manipulation with Prebiotics and Probiotics To Enhance Gut Health and Food Safety. *Applied and environmental microbiology*, v. 86, n. 13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00600-20>

KOLANI, A. et al. Effects of Dietary Palm Oil on Production Performance and Serum Parameters of Laying Hens. **International Journal of Poultry Science**, v. 18, p. 1-6, 2019. DOI: 10.3923/ijps.2019.1.6

KOLANI, A.; ADJRAH, Y.; EKLOU-LAWSON, M.; TETEH, A.; TONA, K. Effects of Dietary Palm Oil on Production Performance and Serum Parameters of Laying Hens. *International Journal of Poultry Science*, v. 18, p. 1-6, 2019. DOI: 10.3923/ijps.2019.1.6

KUNZ, A. et al. **Manejo Ambiental na Avicultura**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves. v. 149, 2011.

LI, D.F. Interrelationship between hypersensitivity to soybean proteins and growth performance in early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.69, p. 4062–4069, 1991.

LÜCKSTÄDT, C. Acidifiers in animal nutrition: A guide for feed preservation and acidification to promote animal performance. **Nottingham: Nottingham University Press**, 2007.

MACARI, M.; LUNEDO, R.; PEDROSO, A. A. Microbiota intestinal de aves. In: MACARI, M.; MENDES, A.A.; MENTEN, J.F.; NAAS, I.A. **Produção de frango de corte**, p. 300-319, 2014.

MACARI, M.; MAIORKA, A. **Fisiologia das aves comerciais**. Jaboticabal: Funep, PROL Editora Gráfica, 806 f. 2017.

MADLALA, T.; OKPEKU, M.; ADELEKE, M. A. Understanding the interactions between Eimeria infection and gut microbiota, towards the control of chicken coccidiosis: a review. Comprendre l'interaction entre l'infection à Eimeria et le microbiote intestinal pour lutter contre la coccidiose du poulet : une synthèse. **Parasite** (Paris, France), v. 28, n. 48. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1051/parasite/2021047>

MAIORKA, A. **Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola**. **Anais do V Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. Chapecó, Santa Catarina, Brasil, p. 26–41, 2004.

MENTEN, J. F. M.; LOMGO, F. A.; VIOLA, E. S.; RIZZO, P. V. **Antibióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais na nutrição de monogástricos**. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. (org.). **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p. 511-536, 2014.

MIAO, S.; HONG, Z.; JIAN, H.; XU, Q.; LIU, Y.; WANG, X.; ZOU, X. Alterations in intestinal antioxidant and immune function and cecal microbiota of laying hens fed on coated sodium butyrate supplemented diets. **Animals**, v. 12, n. 5, 2022.

MICHIELS, J.; et al. In vitro degradation and in vivo passage kinetics of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde along the gastrointestinal tract of piglets. **J. Sci. Food Agric.** v. 88, p. 2371–2381, 2008.

MIGLIORINI, M. J.; BOIAGO, M. M.; STEFANI, L. M.; ZAMPAR, A.; ROZA, L. F.; BARRETA, M.; ARNO, A.; ROBAZZA, W. S.; GIURIATTI, J.; GALVÃO, A. C.; BOSCATTO, C.; PAIANO, D.; DA SILVA, A. S.; DE C. TAVERNARI, F. Oregano essential oil in the diet of laying hens in winter reduces lipid peroxidation in yolks and increases shelf life in eggs, **Journal of Thermal Biology**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.102409>

MORAIS, L. A. S. de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura brasileira**, v. 27, n. 2, 2009.

MOHARRERI, M.; VAKILI, R.; OSKOEIAN, E.; RAJABZADEH, G. Phytobiotic role of essential oil-loaded microcapsules in improving the health parameters in *Clostridium perfringens*-infected broiler chickens, **Italian Journal of Animal Science**, v. 20, n. 1, p. 2075-2085, 2021. DOI: 10.1080/1828051X.2021.1993093

NABUUS, M.J.A. Microbiological, structural and function changes of the small intestine of pigs at weaning. **Pigs News and Information**, Oxfordshire, v.16, n.3, p.93-97, Sep.1995.

NITISH, J.; YADAV, S. B.; THI, T. H. V.; DRAGANA, S.; KAPIL, C.; ROBERT, J. M. The temporal fluctuations and development of faecal microbiota in commercial layer flocks. **Animal Nutrition**, v. 15, p. 197-209, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.07.006>.

NUTRIENT REQUIREMENTS OF SWINE (NRC). 11.ed. Washington, DC: **National Academy**, 2012. 400p

ORTIZ, R.W. P. **Estudo da síntese química do ácido dl-málico por hidratação do ácido fumárico**. 2018. 115 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2018.

PARK, S. Y. et al. Effect of storage condition on bone breaking strength and bone ash in laying hens at different stages in production cycles. **Poultry Science**. v. 82, p. 1688–1691. 2003.

PEEBLES, E. D.; MCDANIEL, C. D. Practical manual for understanding the shell structure of broiler hatching eggs and measurements of their quality. **Mississippi Agric. & Forestry Experiment Station**, 2004.

PEREIRA, B. B. *et al.* **Aditivos alimentares: conceitos, aplicações e toxicidade**. Monte Carmelo, MG: Ed. FUCAMP, 2013. E-book. Disponível em: <https://www.unifucamp.edu.br/wpcontent/uploads/2019/06/editora-fucamp-livro-boscolli-3-2019.pdf>. Acesso em: 08 dez. 2023.

- PESSOA, R. A. S. **Nutrição Animal - Conceitos Elementares**. Editora Saraiva, 2014. E-book. ISBN 9788536521671. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536521671/>. Acesso em: 08 dez. 2023.
- PINHEIRO, S. G.; COSTA, F. G. P.; GUERRA, R. R.; GIVISIEZ, P. E. N.; ABREU, C. G. de; DANTAS, L. da S.; LIMA, M. R. de; CAVALCANTE, D. T.; CARDOSO, A. S. Metabolizable energy and sulfur amino acid for laying hens in the first production cycle. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 9, n. 8, p. e344984895, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i8.4895. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/4895>. Acesso em: 12 jan. 2024.
- PIRES, M.; LEANDRO, N.; OLIVEIRA, H.; JACOB, D.; CARVALHO, F.; STRINGHINI, J.; CARVALHO, D.; ANDRADE, C. Effect of Dietary Inclusion of Protected Sodium Butyrate on the Digestibility and Intestinal Histomorphometry of Commercial Laying Hens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 23, n. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2020-1406>
- RAMIREZ, S. Y.; PEÑUELA-SIERRA, L. M.; OSPINA, M. A. Effects of oregano (*Lippia origanoides*) essential oil supplementation on the performance, egg quality, and intestinal morphometry of Isa Brown laying hens. **Veterinary world**, v. 14, n. 3, p. 595–602, 2021. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.595-602>
- REECE, W. O. **Dukes | Fisiologia dos Animais Domésticos**, 13ª edição. Grupo GEN, 2017. E-book. ISBN 9788527731362. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527731362/>. Acesso em: 08 dez. 2023.
- ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed., Viçosa: UFV, 403p, 2017.
- ROWE, W. O.; REECE, E. W. **Anatomia Funcional e Fisiologia dos Animais Domésticos**. Grupo GEN, 2020. E-book. ISBN 9788527736886. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527736886/>. Acesso em: 08 dez. 2023.
- SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 678 f. 2014.
- SAMINATHAN, M.; MOHAMED, W. N. W.; NOH, A. M. D.; IBRAHIM, N. A.; FUAT, M. A.; DIAN, N. L. H. M.; RAMIAH, S. K. Potential of feeding crude palm oil and co-products of palm oil milling on laying hens' performance and egg quality: A review. **Journal of Oil Palm Research**, v. 32, n. 4, p. 547-558, 2020. DOI:10.21894/jopr.2020.0059
- SANTOS, R. R.; SEGURA, C. J.; SARMIENTO, F. L. Egg quality during storage of eggs from hens fed diets with crude palm oil. **Revista MVZ Córdoba**, v. 24, n. 3, 2019.
- SEEDOR, J. G. et al. The bisphosphonate alendronate (MK – 217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 6, n.4, p. 339-346. 1991.
- SHAHIR, M.; MOHAMADI, M.; GHAZI, S.; AFSARIAN, O.; MORADI, S. Effects of probiotic and calcium butyrate on production performance, egg quality, blood parameters and immune response in laying hens. **Journal of Veterinary Research**. v. 67, p. 313-323, 2012.
- SILVA, E. I. C. **Anatomia e Fisiologia das Aves Domésticas-Anatomia da Galinha**. Instituto Federal de Pernambuco – Campus Belo Jardim. 2020.
- SILVA, T. R. et al. **Acidificantes como aditivos em dietas de animais não ruminantes**. In:

XI AMOSTRA CIENTÍFICA FAMEZ/UFMS, 11., 2018, Campo Grande. Anais... Campo Grande: XI MOSTRA FAMEZ, 2018.

SOBCZAK, A.; KOZŁOWSKI, K. Effect of dietary supplementation with butyric acid or sodium butyrate on egg production and physiological parameters in laying hens. **Archiv fur Geflugelkunde**. v. 80, 2016. DOI: 10.1399/eps.2016.122.

SOLOMON, S. E. Egg and eggshell quality. London: Wolfe Publishing, 149 f., 1997.

SOLTAN, M. A. Effect of Dietary Organic Acid Supplementation on Egg Production, Egg Quality and Some Blood Serum Parameters in Laying Hens. **International Journal of Poultry Science**, v. 7, p. 613-621, 2008.

SONG, M.; JIAO, H.; ZHAO, J.; WANG, X.; LI, H.; WANG, P.; MA, B.; SUN, S.; LIN, H. Dietary Supplementation of Calcium Propionate and Calcium Butyrate Improves Eggshell Quality of Laying Hens in the Late Phase of Production. **The journal of poultry science**, v. 59, n. 1, p. 64–74, 2022. DOI: <https://doi.org/10.2141/jpsa.0200127>

STAMILLA, A.; et al. Effects of Microencapsulated Blends of Organics Acids (OA) and Essential Oils (EO) as a Feed Additive for Broiler Chicken. A Focus on Growth Performance, Gut Morphology and Microbiology. **Animals (Basel)**. v. 10, n. 3, p. 442. DOI: 10.3390/ani10030442.

VARGAS-RODRIGUEZ, L. M.; HERRERA, J. G.; MORALES, E. J.; ARCOS-GARCIA, J. L.; LOPEZ-POZOS, R.; RUELAS, G. Effect of Citric Acid, Phytase and Calcium in Diets of Laying Hens on Productive Performance, Digestibility and Mineral Excretion. **International Journal of Poultry Science**, v. 14, p. 222-228, 2015. DOI:10.3923/ijps.2015.222.228

VERTIPRAKHOV, V. G.; GROZINA, A. A.; BORISENKO, K.V. Effects of Biologically Active Substances on Blood's Biochemical Properties of Laying Hens in Pre- and Postprandial Phases. *Russ. Agricult. Sci.* v. 45, p. 470–473, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3103/S1068367419050185>

WANG, H.; et al. Effects of encapsulated essential oils and organic acids on laying performance, egg quality, intestinal morphology, barrier function, and microflora count of hens during the early laying period. **Poultry Science**. Ciência Avícola, v. 98, n. 12, 2019.

WANG, Y.; WANG, Y.; SU, C.; et al. Dietary cinnamaldehyde with carvacrol or thymol improves the egg quality and intestinal health independent of gut microbiota in post-peak laying hens. **Frontiers in Veterinary Science**. 2022. DOI: 10.3389/fvets.2022.994089.

WATANABE, G. C. A. **Anacardato de cálcio e suas associações com ácido cítrico na alimentação de poedeiras comerciais**. 2021. 101 f. Tese (Tese em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021.

WESLEY, R.; STADELMAN, W. Measurements of Interior Egg Quality. **Poultry Science**. v. 38, p. 474-481, 1959. DOI: 10.3382/ps.0380474.

WILKINSON, N.; HUGHES, R. J.; BAJAGAI, Y. S.; ASPDEN, W. J.; HAO VAN, T. T. MOORE RJ, STANLEY D. Reduced environmental bacterial load during early development and gut colonisation has detrimental health consequences in Japanese quail. **Heliyon**. v. 16, n. 6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03213>.

YANG, X. et al. Effects of encapsulated organic acids and essential oils on intestinal barrier,

microbial count, and bacterial metabolites in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 98, n. 7, p. 2858–2865, 2019.

YESILBAG, D.; COLPAN, I. Effects of Organic Acid Supplemented Diets on Growth Performance, Egg Production and Quality and on Serum Parameters in Laying Hens. **Revue De Medecine Veterinaire**, v. 157, p. 280-284, 2006.

WALTON, K.D. et al. Vilification in the mouse: Bmp signals control intestinal villus patterning. **Development**, v. 143, p. 427-436, 2016.

ZHANG, L.; GE, J.; GAO, F. et al. Rosemary extract improves egg quality by altering gut barrier function, intestinal microbiota and oviductal gene expressions in late-phase laying hens. **J Animal Sci Biotechnol**, v. 14, n. 121, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00023-00>

ZHANG, Q.; ZHANG, K.; WANG, J.; BAI, S.; ZENG, Q.; PENG, H.; ZHANG, B.; XUAN, Y.; DING, X. Effects of coated sodium butyrate on performance, egg quality, nutrient digestibility, and intestinal health of laying hens. **Poultry science**, v. 101, n. 9, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102020>