



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LUIZ GUSTAVO ALESSI ARISTIDES

**INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE CARNES PSE
(PALE, SOFT, EXUDATIVE) E DE *SALMONELLA SPP* EM
FRANGOS DE CORTE PELO USO DE PROBIÓTICOS,
PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS.**

LUIZ GUSTAVO ALESSI ARISTIDES

**INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE CARNES PSE
(PALE, SOFT, EXUDATIVE) E DE *SALMONELLA SPP* EM
FRANGOS DE CORTE PELO USO DE PROBIÓTICOS,
PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível mestrado) da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Massami Shimokomaki.

Londrina
2010

**Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

A715i Aristides, Luiz Gustavo Alessi
Inibição do desenvolvimento de carnes PSE (Pale, Soft Exudative) e de
Salmonella spp em frangos de corte pelo uso de probióticos e
simbióticos / Luiz Gustavo Akessk – Londrina, 2010. 89f.

Orientador: Elve Miguel Cenci

Dissertação (Mestrado em Direito Negocial) – Universidade Estadual
de Londrina, Centro de Estudos Sociais Aplicado, Programa de Pós-
Graduação em Direito Negocial, 2010.

1. Carne de ave – Teses. 2. Carne de ave – Salmonela – Teses. 3. Carne –
Qualidade – Teses. I. Shimokomaki, Massami. II. Universidade Estadual
de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Pós-Graduação em Ciência de
Alimentos. III. Título.

CDU 664.91

LUIZ GUSTAVO ALESSI ARISTIDES

**INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE CARNES PSE (PALE, SOFT,
EXUDATIVE) E DE *SALMONELLA SPP* EM FRANGOS DE CORTE
PELO USO DE PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Ciência e Tecnologia de Alimentos da
Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Massami Shimokomaki
UEL – Londrina - PR

Profa. Dra. Alice Eiko Murakami.
UEM - Maringá – PR

Profa. Dra. Adriana Lourenço Soares
UEL – Londrina - PR

Londrina, 27 de março de 2010.

Dedico este trabalho aos meus pais, Luiz Alberto Alessi Aristides e Cacilda Rosa Aristides, pela educação, carinho e amor proporcionados durante toda minha vida, sempre apoiaram minhas decisões e permitiram que eu chegasse até aqui.

A minha irmã Francielle Fernanda Alessi Aristides, que cresceu ao meu lado e me fez sentir ser sempre um irmão amado.

À Claudia Pereira, minha companheira, amor da minha vida, que há 2 anos quase, faz parte da minha vida, dos meus sonhos e planos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permitir alcançar todos os meus objetivos e sonhos e, mais uma vez, chegar ao final de mais uma etapa na minha vida.

Agradeço ao Professor Massami Shimokomaki, por ter acreditado em mim e me acolhido junto ao grupo de carnes, que na verdade é uma grande família. Agradeço pelas orientações tanto profissionais como pessoais durante todo este período e pela amizade construída, que pretendo cultivar por muito tempo.

Ao Professor Dr. Wilmar Marçal por ter aberto as portas como orientador de estágio a sete anos atrás.

A Professora Dra. Ivone Mizubuti por ter feito parte da minha vida acadêmica, me orientando no estágio curricular obrigatório.

Ao Professor Dr. Caio Abércio da Silva, por ter acreditado no meu sonho e ter aceitado de coração e por ter assumido o conselho administrativo da VETJr, empresa junior de consultoria.

Ao professor Dr. Julio Herman, excelente professor ao qual eu dedico toda a minha admiração.

Ao Professor Dr. Amauri Alcindo Alfieri, que é um grande exemplo de profissional, é um espelho para mim como palestrante.

À todos os professores da Medicina Veterinária da UEL, que contribuíram em muito para a minha formação Profissional.

Ao Professor Dr. Alexandre Oba, pessoa essa que tem a admiração unanime do curso de Zootecnia e a minha admiração e respeito, pela sua determinação, pela sua força, sem dúvida alguma uma grande aquisição ao departamento de zootecnia da UEL a sua vinda.

A Professora Dra. Adriana Lourenço Soares, por ter me ajudado muitas vezes, por ter me defendido em alguns momentos a qual me sentia sem defesa.

A Professora Dra. Elza Ida, por ser uma excelente profissional, por fazer parte de uma minoria de pesquisadores nesse país nível 1A pelo CNPq e que leva a nossa bandeira por onde passa.

A Professora Dra. Alice Murakami da UEM que gentilmente colaborou em muito em meus trabalhos externos de divulgação do evento SIMPROTEC CARNES.

Aos colegas do grupo do grupo de carnes: Alan, Iris, Denis, Gislaine, Marta, Alberto, Valdecir, Fernanda, Leticia, Aniele, Janaina, enfim a todo o grupo de carnes.

Ao Programa de pós-graduação do departamento de ciência e tecnologia de alimentos da UEL, pelo carinho dedicado aos alunos da pós-graduação.

Ao CNPq por me privilegiar com a minha bolsa de estudos e financiar o meu projeto de pesquisa.

Ao Dr. Cliuson Francisco Lopes, fiscal federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que me abriu uma grande porta e contribuiu em muito para minha área de atuação, que é avicultura industrial.

Ao diretor agropecuário Valter Bampi, por ter aberto as portas da empresa Big Frango, ao qual pude desenvolver a minha pesquisa e que é um espelho de um profissional de sucesso para mim.

A todos amigos da faculdade, Alê, Marcelo, Naka, Piero, Romerson, Tonel, Katia, Gustavo (Thor), Jaqueline, Keila, Gilmar, Turini entre outros que direta ou indiretamente fizeram parte da minha vida acadêmica.

Agradeço aos meus sogros, Antônio e Vitalina, pelo apoio e carinho.

Ao minha irmã, que sempre me ajudou muito em tudo e que é uma grande guerreira e vitoriosa e pra mim um grande exemplo de superação.

Ao meu pai, Luiz Alberto, pelo exemplo de pai e homem, meu exemplo de vida, determinação, caráter e competência. E à minha mãe, Cacilda, exemplo de dedicação aos filhos e marido e pela fé em Deus. Obrigado pela dedicação e por toda a educação que me deram, isso contribuiu muito para que eu chegasse até aqui, realizando mais um de meus sonhos. Amo vocês!

E por último, gostaria de agradecer a Deus mais uma vez, por ter conhecido a Claudia Pereira. Nestes quase 2 anos juntos, aprendi o que é amar de verdade e ser amado de forma recíproca e intensa. **Obrigado!**

“Nunca diga a seu Deus o tamanho de seus problemas, mas diga aos seus problemas o tamanho de seu Deus” (Autor desconhecido)

JESUS disse... “Tenho-vos dito isto, para que em mim tenhais paz; no mundo tereis aflições, mas tende bom ânimo, eu venci o mundo”. (João 16:33)

ARISTIDES, L. G. A. **Inibição do desenvolvimento de carnes PSE (Pale, Soft, Exudative) e de *Salmonella spp* em frangos de corte pelo uso de probióticos, prebióticos e simbióticos.** 2010. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina Pr.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da ração para frangos contendo probiótico, prebiótico e simbiótico sobre o índice zootécnico e o desenvolvimento das carnes PSE e a influência destes produtos na incidência de salmonelas em frangos. Um total de 1.500 frangos Cobb foram distribuídos inteiramente ao acaso em 5 tratamentos, com 6 repetições e cada repetição constituída de 50 aves: 1) Tratamento Probiótico contendo *Bacillus subtilis*, (30g/ton); 2) Prebiótico contendo mananoligossacarídeo, (2kg/ton), Simbiótico contendo *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, mananoligossacarídeo e frutoligossacarídeo (3kg/ton na fase inicial, 2kg/ton na fase de crescimento, e 1kg/ton na fase de acabamento; 3) Promotor de crescimento, Avilamicina (10ppm) e finalmente tratamento controle, constituído de ração básica sem adição de aditivos. Foram avaliados os parâmetros zootécnicos: pesos das aves de 1- 21 dias e 1-42 dias, ganho de peso diário (GPD), conversão alimentar (CA), consumo de ração (CR), vabilidade (V), índice de eficiência produtiva (IEP) e rendimento de carcaças e cortes (RCC). Amostras foram coletadas para determinação de carnes PSE. Para isso foram feitas as seguintes análises: pH, cor (L*,a*,b*), capacidade de retenção de água (CRA), perda por cozimento, oxidação lipídica e textura. Todas as medidas foram realizadas 24 horas *post mortem*, exceto oxidação lipídica que foi realizada aos 90 dias após abate. Carnes PSE foram assim classificadas medindo o valor $L^* \geq 53$ e $pH < 5,9$, normais entre $L^* 44 < L^* < 53$, e a-DFD $pH > 5,9$ e $L^* \leq 44$. Os resultados zootécnicos e qualidade de carne foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de significância para comparação de médias. Um método foi desenvolvido durante o transcorrer dos trabalhos e denominado multiplex-polymerase chain reaction m-PCR com a finalidade de se detectar *Salmonella spp* e também *Salmonella Enteritidis* e assim avaliar a eficiência dos bióticos no controle dessas bactérias. Os resultados indicaram que os valores de GPD, CR, e V, IEP e RCC não foram significativos ($p < 0,05$) enquanto que para a qualidade da carne houve uma significativa inibição da formação das carnes PSE. O grupo controle apresentou-se com 83% de PSE, avilamicina com 33%, prebiótico com 33%, simbiótico com 50%, e finalmente, o grupo probiótico com 25,0% de carnes PSE. A oxidação lipídica medida como TBARS e a textura avaliada pelo Texturometro TA-XT2i, foram menores e mais amaciadas respectivamente, em amostras das aves tratadas com os bióticos ($p < 0,05$). Estes produtos atuaram preventivamente na formação de carnes PSE e também na ocorrência de *Salmonellas spp* em aves. Não foi detectada a sua presença no primeiro dia de alojamento. No entanto, ao décimo dia houve uma contaminação das aves através do ambiente (média de 44% das amostras positivas para *Salmonella spp*). No vigésimo dia, foi observado que os tratamentos com probióticos e simbióticos atuaram de forma similar ao tratamento contendo avilamicina no controle deste patógeno, e apenas 16% das amostras de fezes coletadas apresentavam positividade para *Salmonella spp*, conferindo aos 2 aditivos orgânicos, o mesmo feito quando tratado apenas com avilamicina. Finalmente, os resultados mostraram que os bióticos na dieta podem ser indicados para substituir os promotores de crescimento devido a sua similaridade de resultados em relação aos índices zootécnicos, na prevenção parcial da formação das carnes PSE e principalmente na proteção dos frangos à *Salmonella Enteritidis*.

Palavra – Chave: Prebiotico. Probiótico. Simbiótico. PSE. Salmonella.

ARISTIDES, L. G. A. Broiler chickens development **inhibitor of PSE meat (Pale, Soft, Exudative) and *Salmonella spp* by the use of probiotics, prebiotics and synbiotics**. 2010. 89 p. Dissertation (Master degree in Food Science) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina Pr.

ABSTRACT

An experiment was carried out in order to evaluate the role of dietary probiotic, prebiotic and synbiotic mixed with ration on broiler growth performance, inhibition of PSE meat formation and resistance of the birds to the salmonella development. A total number of 1500 Cobb broilers were distributed according to a completely randomized experimental design into five trials with 6 repetitions and each comprising of 50 birds: trial 1 consisted of probiotic containing *Bacillus subtilis* (30g/ton); trial 2 prebiotic (2kg/ton), mannan oligosaccharide; trial 3 synbiotic composed of *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, mannan oligosaccharide and fructo oligosaccharide, (3kg/ton at phase 1, 2kg/ton at phase 2, and 1kg/ton at phase 3); trial 4 growth promoter avilamicin (10 ppm); and finally trial 5 as control group without addition of any of the experimental ingredients. The following parameters were evaluated: Daily Weight Gain (DWG) 1-21 d and 1-42 d, Feed Intake (FI), Ration Consumption (RC), Productive Efficiency Index (PEI), Mortality Rate (MR) and Carcass and Cut Yields (CCY). Breast fillets were collected for PSE and a-DFD meat evaluation. Thus the following analyses were performed: pH, Color (L^* , a^* , b^*), Water Holding Capacity (WHC) measurement, Cook Loss, Lipid Oxidation and Texture. All measurements were carried out in 24h pos mortem except for lipid oxidation analysis which was performed in 90 days pos mortem samples. PSE meat was classified according to the L^* values of $L^* \geq 53$, normal samples $L^* 44 \geq 53$, both lots at pH 5.9 and a-DFD $L^* \leq 44.0$ and pH > 5.9. The results of growth performance and meat qualities were submitted to the Tuckey test to 5.0% of significance for mean comparison. m-PCR method was developed in order to detect *Salmonella spp* and *Salmonella Enteritidis* thus evaluating the potential for the biotics to control salmonella development. The results indicated that DBW, FI, MR, RC values were not significant whereas for the meat quality there was a significant inhibition of PSE meat formation ($p < 0.05$). The control group presented the occurrence of 83.0%, Avilamicin group of 33.0%, Prebiotic group of 33.0%, Synbiotic group of 50.0%, and finally Probiotic 25.0% of PSE meat. Lipid oxidation measured as thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and texture evaluated with Texturometer TA-XT2i were significantly lower in samples from birds treated with biotics for both measurements ($p < 0.05$). Rations containing the biotics were active also to salmonella contamination inhibition. Its presence was not found at 0 d in none of treatments. However at 10th day a bacteria contamination was observed an averaged of 44.0% of samples towards *Salmonella spp*. At 20th day, birds treated with rations containing probiotics and synbiotics presented similar results as for avilamicina and only 16% were contaminated. This data suggested that this bacteria contamination occurred through the birds environment. Finally the results of this investigation pointed out that the rations containing those biotics could be indicated as substitutes of the growth promoters because of their beneficial effects in relation to the partial prevention of the development of the PSE meat and particularly to the protection to the growth of *Salmonella Enteritidis*.

Key – word: Prebiotic. Probiotic. Synbiotic. PSE. *Salmonella*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Hipótese Para Explicar A Relação Entre Carnes Pse E Oxidação Lipídica.....	39
Figura 2 – Esquema Representativo Do Sarcômero E Algumas De Suas Proteínas Estruturais.....	43
Figura 3 – Alojamento Das Aves Em Boxes Na Unidade Experimental.....	47
Figura 4 – Aferição De pH De Amostras De Filé De Peito (Pectoralis Major).....	50
Figura 5 – Aferição Dos Parâmetros De Cor Em Filés De Peito De Frango (Pectoralis Major) Através Do Sistema CIELAB*	51
Figura 6 – Classificação dos Filés De Peito De Frango (Pectoralis Major) Em DFD, NORMAL E PSE.....	51
Figura 7 – Salmonella Enteritidis apresentando duas bandas (796pb e 316pb) e Salmonella spp com apenas uma banda (796pb).....	56
Figura 8 – Incidência de PSE e DFD No Tratamento Sem Aditivos.....	62
Figura 9 – Incidência de PSE e DFD No Tratamento Com Avilamicina	62
Figura 10 – Incidência De PSE e DFD No Tratamento Com Prebiótico.....	63
Figura 11 – Incidência PSE e DFD No Tratamento Com Simbiótico.....	63
Figura 12 – Incidência De PSE E DFD No Tratamento Com Probiótico	64
Figura 13 – Ação dos Bióticos sobre a qualidade da carne e sobre o controle de Salmonella spp.....	69
Figura 14 – Eletroforese Em Gel De Agarose Para m-PCR De Culturas De Salmonella Spp.....	72
Figura 15 – Eletroforese Em Gel De Agarose Para Amplificação Por m-PCR A Partir De Suabes Coletados Em Frangos Com 10 Dias De Idade	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela nutricional, dividida em 3 fases: Inicial 1-21 dias, crescimento 22-28 dias e acabamento de 29-42 Dias	45
Tabela 2 – Suabes Coletados Através De Mistura De Fezes De Diferentes Tratamentos Para Detecção De Salmonella Sp Pelo Método De m-PCR	54
Tabela 3 – Média de ganho de peso dos Frangos 1-21 dias, 1-42 dias, CR, CA, V, GPD, IEP	58
Tabela 4 – Rendimento de carcaça e cortes de Aves que receberam diferentes Aditivos e que foram abatidos aos 42 Dias De Idade	60
Tabela 5 – Valores De Ph 24 Horas, L*, A*, B* De Filés De Peito De Frango (Pectoralis Major), submetidos a diferentes tratamentos com substitutos de promotores de crescimento	61
Tabela 6 – Capacidade De Retenção De Água (Cra) (%), Perda Por Cozimento (%), Força De Cisalhamento (N), Oxidação Lipídica (Mg De Tbars/Kg De Amostra) avaliadas em filés de peito de Frango (Pectoralis Major) Alimentados Com Diferentes Tratamentos	69
Tabela 7 – Incidência de Salmonella spp, nos diferentes tratamentos contendo aditivos	73

LISTA DE ABREVIações

ABEF	Associação Brasileira De Exportadores De Frango
PSE	Pálido, Mole e Exsudativo
GPD	Ganho de Peso Diário
CA	Conversão Alimentar
pH	Potencial Hidrogeniônico
ONGs	Organizações Não Governamentais
TGI	Trato Gastrointestinal
MOS	Mananoligossacarídeo
FOS	Frutoligossacarídeo
GOS	Glucoligossacarídeo
IgA	Imunoglobulina Tipo A
L*	Valor de luminosidade
a*	Componente vermelho pelo sistema Cielab
b*	Componente amarelo pelo sistema Cielab
CRA	Capacidade de retenção de Água
MFI	Índice de Fragmentação Miofibrilar
ADP	Adenosina Difosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
RyR	Proteína receptora de Rianodina
PLA2	Fosfolipase A2
HM	Hipertermia Maligna
PSS	Síndrome do estresse suíno
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
m-PCR	Reação de Polimerase em Cadeia
ST	Salmonella Typhimurum
DOA	Morte na chegada
SC	Saccharomyces Cerevisiae
ET	Estresse Térmico

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVO GERAL	17
2.1 OBJETIVO ESPECIFICO	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 EXIGÊNCIA DO CONSUMIDOR.....	18
3.2 ADITIVOS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL.....	19
3.3 PREBIÓTICO.....	19
3.4 PROBIÓTICO	25
3.5 SIMBIÓTICO	27
3.6 QUALIDADE DE CARNE DE FRANGO.....	28
3.6.1 Características de Qualidade da Carne.....	31
3.6.2 Transformação do Músculo em Carne	32
3.6.3 Estresse	33
3.6.4 Origem Genética	37
3.6.5 Rancidez Oxidativa e PSE	38
3.6.6 Proteases	39
3.6.7 Proteases na Carne PSE	41
4 MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1 CRIAÇÃO DOS ANIMAIS	44
4.2 OS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS CONSISTIRAM EM:	46
4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	46
4.4 INDICES ZOOTÉCNICOS	47
4.4.1 Ganho de Peso Diário (GPD).....	47
4.4.2 Consumo de Ração (C.R.)	47
4.4.3 Conversão Alimentar (CA).....	48
4.4.4 Viabilidade (V)	48

4.4.5 Índice de Eficiência Produtiva (IEP)	48
4.5 RENDIMENTO DE CARÇAÇA E CORTES	48
4.6 ABATE E OBTENÇÃO DE MATÉRIA PRIMA.....	49
4.7 VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE DA CARÇAÇA.....	49
4.7.1 Medidas de pH	49
4.7.2 Medidas de Cor	50
4.7.3 Classificação dos Filés de Peito de Frango.....	51
4.7.4 Capacidade de Retenção de Água.....	52
4.7.5 Perda Por Cozimento	52
4.7.6 Textura	52
4.7.7 Oxidação Lipídica	53
4.7.8 Análise Estatística	53
4.8 MONITORAMENTO DAS SALMONELOSES	54
4.8.1 Cepas Bacterianas	54
4.8.2 Procedimento Experimental	54
4.8.3 Extração de DNA.....	55
4.8.4 Experimentos de PCR.....	55
4.8.5 Análise em Gel de Agarose.....	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 ÍNDICE ZOOTÉCNICO.....	57
5.2 QUALIDADE DE CARNE DE FRANGOS ALIMENTADOS COM DIFERENTES ADITIVOS	61
5.3 BIÓTICOS E MANEJO E PSE	64
5.4 BIÓTICOS E PSE E OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	66
5.5 BIÓTICOS E PSE E TEXTURA.....	67
6 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À SALMONELOSE.....	71
7 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS.....	75

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa uma posição de destaque no mercado internacional, mantendo-se desde 2004, como maior exportador mundial de carne de frango. Em 2008, a produção brasileira de carne de frango segue no terceiro lugar do ranking, com 10,9 milhões de toneladas, auferindo um crescimento de 6,12%, precedido pela China, com 11,9 milhões de toneladas, e Estados Unidos, em primeiro lugar com seus 16,6 milhões de toneladas, com crescimentos respectivos de 5,4 e 2,1% (ABEF, 2008).

Em recentes anos, o Grupo de Pesquisa em Ciência e Tecnologia de Carnes e Derivados da Universidade Estadual de Londrina, tem se dedicado na pesquisa da manutenção da qualidade da carne de frangos. Foi, dessa maneira, o primeiro grupo no Brasil a demonstrar a existência das carnes com PSE (OLIVO et al., 2001; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2006) e a melhora na textura durante o armazenamento dos filés de peito de frango (KRIESE et al., 2007). Ênfase tem sido dada na influência do manejo pré e pós-abate dessas aves no sentido de diminuir os prejuízos decorrentes de um manejo inadequado, que tem como consequência as alterações na qualidade da carne, principalmente com problemas decorrentes ao PSE que incorrem em perdas em torno de 1,2% do peso vivo da ave e acometem cerca de 30% da produção brasileira, o que correspondem a perdas de aproximadamente 33 milhões de dólares/ano em faturamento (GUARNIERI et al., 2003; SIMÕES et al., 2009N; LANGER et al., 2009).

Na elaboração do frango moderno houveram alterações nas exigências nutricionais dos animais, como consequência do melhoramento genético. Neste sentido, nos últimos anos, têm surgido diversos aditivos alimentares como substitutos dos antibióticos promotores de crescimento e os mais recentes são os prebióticos, probióticos e simbióticos, produtos originários da biotecnologia. Sem dúvida, a utilização desses modernos compostos está se tornando primordial, pois existe o potencial de se obter resultados semelhantes ao do uso de promotores de crescimento a base de antibióticos.

A alta frequência de bactérias patogênicas para animais e a resistência aos antimicrobianos, provocadas pelo uso dos promotores de crescimento bem como o aumento de bactérias patogênicas para humanos,

presentes em produtos de origem animal, levaram a questionar o uso indiscriminado desses ingredientes em rações animais, dando sustentação às recomendações do Comitê Swann, na Grã Bretanha, em 1969 (SWANN COMMITTEE, 1969) e culminando com a proibição do seu uso em animais pela União Européia a partir de 2006 (COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, 2003). Torna-se difícil imaginar a produção animal, nos níveis atuais de tecnificação e produtividade, sem o auxílio de aditivos alimentares na prevenção de doenças ou como promotores de crescimento. E dessa forma, o uso dos bióticos aparece como alternativa à utilização do quimioterápico (REVINGTON, 2002; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003).

Prebiótico, probiótico e simbiótico são termos utilizados em aditivos alimentares, no qual a sua adição à ração animal como promotor de crescimento favorece a saúde do animal. Esse efeito é direcionado às diferentes regiões do trato gastrointestinal do animal, intestinos delgado e grosso, onde o consumo de prebióticos e probióticos selecionados corretamente aumenta os seus efeitos benéficos. Muito tem se questionado sobre o uso desses aditivos orgânicos em relação à qualidade da carne. Para alguns autores, tem sido vantajosa a administração destes produtos no intuito de melhorar a qualidade da carcaça e da carne (BURKETT, 1977; JENSEN, 1992; MARUTA, 1993; SANTOS, 2002).

Portanto, este estudo visa avaliar os resultados referentes à possibilidade da melhora dos índices zootécnicos e de qualidade da carne de frango, principalmente no que tange ao controle da incidência do desenvolvimento de carnes PSE e da resistência às bactérias patogênicas, *Salmonella spp*, quando utilizados aditivos naturais como probiótico, prebiótico e simbiótico em detrimento à utilização de quimioterápicos na dieta das aves.

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito dos probióticos, prebióticos e simbióticos como promotores de crescimento quando suplementados na ração de frango de corte sobre o índice zootécnico, desenvolvimento do PSE e controle de *Salmonella spp.*

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os seguintes parâmetros zootécnicos: ganho de peso diário, consumo de ração, conversão alimentar, viabilidade, índice de eficiência produtiva e rendimento de carcaça e cortes dos frangos suplementados com probiótico, prebiótico, simbiótico e avilamicina.

Verificar a incidência de carnes PSE em filé de peito de frango (Pectoralis Major), em frangos suplementados com probiótico, prebiótico, simbiótico e avilamicina.

Avaliar a influência dos aditivos prebiótico, simbiótico e avilamicina no controle de agentes patogênicos como: *Salmonella spp.*

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 EXIGÊNCIAS DO CONSUMIDOR

As exigências do mercado mundial incluem a busca por produtos alternativos aos antibióticos promotores de crescimento e nessa linha surgem novas pesquisas, no sentido de atestar a eficiência destas novas tecnologias. Os produtos que visam substituir os atuais promotores de crescimento têm como principal foco de atuação a fisiologia gastrintestinal, embora existam vários fatores coadjuvantes contribuindo para o desempenho como um todo. Pesquisas têm demonstrado que ácidos orgânicos, enzimas, simbióticos, prebióticos, probióticos e aditivos fitogênicos quando adicionados à ração proporcionaram aos animais desempenho semelhante, ou melhor, aos alcançados pelos promotores de crescimento convencionais. Nonboe (1999) e Laval (1999) reportam que, na Europa, o uso de antibióticos como aditivos na alimentação animal foi proibido, a partir de 1999, com a justificativa de que há riscos de desenvolvimento de resistência entre os patógenos humanos. No Brasil, há interesse em se identificar novos ingredientes que possam substituir os antibióticos, sem perda no desempenho dos animais. E, há uma tendência atual de maior demanda pelos chamados produtos orgânicos, ou seja, carne de animais sem aditivos que possuam ação antimicrobiana. Além disso, diversas organizações têm se manifestado contra o uso quimioterápico como promotor de crescimento em rações avícolas. Setores da imprensa, órgãos ligados à saúde, organizações não governamentais (ONGs), entre outros, estão sensibilizando a opinião pública, principalmente em países desenvolvidos, como os europeus, quanto aos possíveis problemas da adição de antibióticos nas rações, estimulando restrições por parte do mercado consumidor de carne e ovos. Assim, surge em muitos países a regulamentação dos aditivos alimentares, com indicação e controle de dosagens e produtos específicos (ALBINO et al., 2006). Dessa forma, o Brasil como outros países exportadores de carne de frango e suínos deverão de buscar aditivos alternativos ao uso de agentes antimicrobianos (RUTZ et al., 2001).

3.2 ADITIVOS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL

O aumento na demanda da produção de frangos trouxe como consequência a utilização de aditivos na nutrição animal. De acordo com ROSSEN (1996), Butolo (1998) e o FEED ADDITIVE COMPENDIUM (1998), aditivos são definidos como substâncias adicionadas à ração em pequenas quantidades, que possuem função pró nutricional, condicionadora ou profilática, não sendo prejudicial ao animal e não deixando resíduos nos produtos de consumo, desde que utilizados sob determinadas normas. Nesse contexto, algumas outras prerrogativas também devem ser preenchidas na classificação de aditivos como: melhorar o desempenho zootécnico dos animais, terem eficiência em pequenas dosagens, não apresentar resistência cruzada com outros aditivos, permitirem a manutenção da flora gastrintestinal normal, não serem tóxicos aos animais e nem aos seres humanos nas doses recomendadas, não serem mutagênicos ou carcinogênicos e não causarem efeitos deletérios ao meio ambiente (LIMA, 1999).

3.3 PREBIÓTICOS

Os prebióticos são ingredientes alimentares que não são digeridos na porção proximal do trato gastrintestinal de animais monogástricos. Proporcionam efeito benéfico ao hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade de um limitado número de bactérias no cólon capazes de proporcionar um ambiente intestinal saudável e melhorar a saúde do hospedeiro (GIBSON; ROBERFROID, 1995; DIONIZIO et al., 2002; JUNQUEIRA; DUARTE, 2005; PELICIA et al., 2005).

Quando os prebióticos são adicionados à ração, a especificidade de sua fermentação estimula o crescimento e a estabilidade das populações microbianas produtoras de ácidos orgânicos, em especial láctico e acético, em detrimento dos demais; estes compostos reduzem o pH do lúmen intestinal e juntamente com outras substâncias antibacterianas e enzimas produzidas por esta mesma microbiota inibem a proliferação dos microorganismos patogênicos sensíveis

a ambientes ácidos como *Escherichia coli*, *Clostridium* sp. e *Salmonella spp* (RADECKI et al., 1991).

Os prebióticos auxiliam a atuação dos probióticos fornecendo nutrientes para que as bactérias benéficas se desenvolvam, melhorando assim, a saúde do animal, a fim de que este possa expressar todo o seu potencial genético (ROSTAGNO et al., 2003).

Embora o termo prebiótico tenha sido adotado somente em 1995 (GIBSON; ROBERFROID, 1995) os estudos sobre estes componentes são bem mais antigos. Na década de 1950, a descoberta de que o leite humano possui compostos que atuam como inibidores da adesão de bactérias patogênicas na superfície epitelial, e que estes ingredientes potencializam o crescimento das populações de bifidobactérias e lactobacillus, aliviando os sintomas de encefalopatia hepática em bebês (WALKER; DUFFY, 1998; ROY; GIBSON, 1999; NICOLI; VIEIRA, 2000) incentivaram outras explorações sobre o efeito do consumo de prebióticos e sua influencia sobre a microbiota intestinal benéfica (FARNWORTH et al. 1992; MATHEW et al., 1993; SUNVOLD et al., 1995; MITSUOKA, 1996; HOUDIJK et al., 1998; KULLEN et al., 1998; SHEEHY; MORRISSEY, 1998; STRICKLING et al., 2000).

Para uma substância ser classificada como prebiótico, ela não pode ser hidrolisada ou absorvida na parte superior do trato gastrointestinal (DIONIZIO et al., 2002; JUNQUEIRA; DUARTE, 2005).

Neste sentido, conforme Macari e Furlan (2005) carboidratos não digeríveis como oligossacarídeos (FOS, GOS, MOS), alguns peptídeos e lipídeos não digeríveis podem ser considerados como prebióticos. Maiorka et al. (2001) comentam que carboidratos não digestíveis, como parede celular de plantas e leveduras, são classificados nesse grupo, pois são constituídos por complexos de glicomanonoproteínas, em particular de mananoligossacarídeos, capazes de ligarem-se à fímbria das bactérias e inibir a colonização no TGI (Trato Gastrointestinal). Podem também serem utilizados como nutrientes pelas bactérias.

FOS são polímeros ricos em frutose, podendo ser naturais, derivados de plantas (inulina) ou sintéticos, resultantes da polimerização da frutose (GIBSON; ROBERFROID, 1995). GOS e MOS são obtidos a partir da parede celular de leveduras. A parede celular de leveduras consiste principalmente de proteínas e carboidratos, a qual contém os dois principais açúcares, glucose e manose, em

proporções semelhantes e N-acetilglucosamina. O MOS utilizado como aditivo de rações, consiste de fragmentos de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* com uma estrutura complexa de manose fosforilada, glucose e proteína (SPRING, 1996; apud MACARI; FURLAN, 2005). De acordo com Silva e Nörnberg, (2003) foi constatado que, apesar de existirem vários compostos resistentes à digestão por ácidos, sais e enzimas produzidos pelo organismo animal, mas potencialmente fermentáveis (celulose, hemiceluloses, amido resistente, oligossacarídeos, compostos fenólicos, etc.), nem todos agiam como estimuladores no desenvolvimento dos microrganismos benéficos no TGI. O fato de não serem digestíveis, mas fermentáveis, não significava que iriam atuar como prebióticos (MACFARLANE; CUMMINGS, 1999). Neste contexto, os oligossacarídeos não digestíveis têm sido preferencialmente usados como prebióticos devido a sua maior seletividade fermentativa (MOSENTHIN; BAUER, 2000). Dessa forma, as características gerais dos prebióticos segundo Silva (2000) seriam:

- Não devem ser metabolizados ou absorvidos durante a sua passagem pelo trato digestivo superior;
- Devem servir como substrato a uma ou mais bactérias intestinais benéficas (estas serão estimuladas a crescer e/ou tornarem-se metabolicamente ativas);
- Possuir a capacidade de alterar a microbiota intestinal de maneira favorável à saúde do hospedeiro;
- Devem induzir efeitos benéficos sistêmicos ou na luz intestinal do hospedeiro.

A principal forma de ação dos prebióticos é sobre a modulação benéfica da microbiota nativa presente no hospedeiro. Os efeitos resultantes do uso de prebióticos são evidenciados pelo crescimento das populações microbianas benéficas, pela melhora nas condições luminiais, aumentando seu valor osmótico (IMMERSEEL et al., 2004), nas características anatômicas do trato gastrointestinal, promovendo o aumento da superfície de absorção da mucosa intestinal, e no sistema imune e, em alguns casos, pela melhora no desempenho animal (SILVA; NÖRNBERG, 2003).

Embora não sejam conhecidos todos os efeitos dos oligossacarídeos suplementados às dietas e suas relações com a produtividade das aves, algumas propostas foram apresentadas. Em sua revisão sobre oligossacarídeos, Iji e Tivey

(1998) mostraram que enquanto glucose e GOS foram igualmente assimilados por espécies de *Bifidobacterium*, os GOS não foram assimilados por espécies patogênicas incluindo *Clostridium* e *Salmonella*. GOS poderia dessa forma, favorecer a proliferação de espécies benéficas e não das patogênicas. Da mesma forma, o FOS na dieta de frangos reduziu a colonização intestinal por *Salmonella typhimurium*.

Passos e Park (2003) explicam que os FOS são conhecidos como prebióticos, por promover o crescimento de probióticos, como *Acidophillus*, *Bifidus* e *Faecium*, promovendo, estabilizando e aumentando a proliferação dessas bactérias benéficas no trato gastrointestinal do hospedeiro. A incorporação de FOS na dieta ou uma suplementação intensifica a viabilidade e adesão dessas bactérias benéficas no trato gastrointestinal, mudando a composição de sua microbiota. Ao mesmo tempo, bactérias patogênicas incluindo *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* e outras têm sido inibidas (YAMASHITA et al., 1984; WANG; GIBSON, 1993; SPIEGEL et al. 1994, GIBSON; ROBERFROID, 1995; GIBSON et al., 1995; PASSOS; PARK, 2003).

Os MOS, conforme Menten (2001) parece ter características específicas que permitem impedir a colonização intestinal por patógenos. Muitos desses patógenos utilizam fimbrias para adesão à mucosa intestinal e esta adesão ocorre em receptores constituídos de mananos. Os MOS adicionados à dieta podem aderir às fimbrias bacterianas bloqueando a adesão das bactérias à superfície intestinal.

Manose ou lactose em dietas de frangos tem sido estudada(s) por reduzir a colonização de *Salmonella spp* (ORYOFO et al., 1989a), mas dextrose, maltose ou sacarose não tiveram efeito no nível de colonização. Por meio de estudos in vitro, infere-se que a manose pode inibir a colonização por *Salmonella* por bloquear os locais de adesão no intestino (ORYOFO et al., 1989b). Entretanto, Mchan et al. (1989) citados por Dionizio et al. (2002) encontraram somente uma pequena redução na adesão da *Salmonella spp* com a manose.

O processo de aderência das bactérias ao enterócito é feito, segundo Macari e Maiorka (2000) através de polissacarídeos - moléculas de açúcares ramificados que se estendem da parede externa da bactéria formando uma estrutura – glicocálix ou fímbria, que envolve a célula ou mesmo uma colônia de bactérias. A aderência das bactérias mediadas pelo glicocálix é que determina a localização das mesmas nos diferentes ambientes, e é o maior determinante do

início do processo de progressão das doenças bacterianas.

Pelicia (2004) observando que os enterócitos no intestino delgado também apresentam seu glicocálix, a colonização por bactérias nos diferentes segmentos parece estar na dependência da aderência do glicocálix de ambos bactéria e enterócito. Este mecanismo parece ser aquele que regula todo o processo de colonização das bactérias no intestino delgado e ceco dos frangos, na fase pós-eclosão. Foi mostrado que o elo entre estes glicocalixes, em muitos casos, pode ser a proteína lectina, a qual se liga especificamente a um polissacarídeo com estrutura molecular peculiar. De acordo com Macari e Maiorka (2000) o posicionamento do glicocálix não apenas atua como um sistema de aderência da bactéria ao enterócito, mas pode armazenar e concentrar as enzimas digestivas produzidas pela bactéria. Enzimas estas que atuam diretamente sobre a mucosa do hospedeiro liberando substratos importantes para a sobrevivência e multiplicação do organismo. Neste sentido, a estrutura do glicocálix funciona como reservatório de nutrientes para as bactérias. Outra função relevante do glicocálix é a de proteção, pois as bactérias estão sendo constantemente submetidas a estresses, como por exemplo, outras bactérias, vírus, íons e moléculas deletérias. A aderência à mucosa intestinal parece ser, portanto, o mecanismo chave da colonização das bactérias patogênicas, e seus efeitos nocivos sobre a saúde intestinal. Assim, processos que possam prevenir a aderência das bactérias, como os prebióticos, são eficazes em reduzir a colonização por patógenos, nos segmentos do trato gastrintestinal, pois atuam inibindo a aderência das bactérias ao enterócito, através da ligação com o glicocálix (MACARI; MAIORKA, 2000).

Silva e Nörnberg, (2003) indicam que os efeitos resultantes do uso de prebióticos são evidenciados pelo crescimento das populações microbianas benéficas, pela melhora nas condições luminiais, nas características anatômicas do TGI e no sistema imune e, em alguns casos, pela melhora no desempenho animal. Assim, com base nestes fatores, pode-se inferir que quando os prebióticos são adicionados à dieta, a especificidade de sua fermentação estimula o crescimento e a estabilidade das populações microbianas produtoras de ácidos orgânicos (em especial, ácido láctico e acético), em detrimento às demais. Estes compostos reduzem o pH luminal e, juntamente com outras substâncias antibacterianas e enzimas produzidas por esta mesma microbiota, inibem a proliferação dos microrganismos nocivos, tais como *Escherichia coli*, *Clostridium sp.* e *Salmonella*

spp, que são sensíveis a ambientes ácidos (RADECKI; YOKOYAMA, 1991). Silva (2000) explica que as substâncias prebióticas agem alimentando e estimulando o crescimento de diversas bactérias intestinais benéficas, cujos metabólitos atuam, também, reduzindo o pH através do aumento da quantidade de ácidos orgânicos presentes nos cecos. Existe também a possibilidade de que determinados oligossacarídeos, como a estaquiose, as galactanas e as mananas, atuem diretamente sobre algumas populações de bactérias patogênicas, por meio de exclusão competitiva. Há evidências de que os oligossacarídeos atuam ligando-se às fímbrias e tornando-as indisponíveis para a aderência de bactérias patogênicas, as quais perderão a sua capacidade de colonização e serão eliminadas do trato gastrointestinal (COLETT, 2000).

Ao estimularem o crescimento das bactérias produtoras de ácido láctico, os prebióticos estão atuando indiretamente e de forma benéfica sobre o sistema imune do hospedeiro, pois estas populações bacterianas produzem substâncias com propriedades imuno-estimulatórias (ex. lipopolissacarídeos, peptidoglicanas e ácidos lipoteicóicos) que interagem com o sistema imune em vários níveis, incluindo a produção de citocinas, a proliferação de células mononucleares, a fagocitose macrófaga e a indução na síntese de grandes quantidades de imunoglobulinas, em especial as IgAs (YASUI; OHWAKI, 1991; BRANDTZAEG, 1998; MACFARLANE; CUMMINGS, 1999). Savage et al. (1996) observaram aumento de 25% na concentração de IgA de perus recebendo MOS. Especula-se que alguns prebióticos específicos podem causar redução na translocação intestinal de patógenos que determinariam infecções após atingirem a corrente sanguínea (SILVA, 2000). Os prebióticos também podem causar modificações benéficas nas características anatômicas do TGI, promovendo o aumento na área de absorção da mucosa intestinal.

Uma vez que os prebióticos estimulam o crescimento e a atividade de bactérias benéficas, que atuam positivamente no sistema imune e promovem melhorias no ambiente e no epitélio intestinal, o uso destes compostos também tem refletido de forma desejável no desempenho animal. Os FOS de acordo com Hidaka et al. (1986, 1991) promovem a melhora no desempenho animal, na redução do colesterol, incidência de diarreias e constipação, tumores e aumento da resposta imune em várias espécies. Alguns trabalhos mostram que o uso de FOS na dieta de aves resulta no aumento do ganho de peso e melhora da eficiência alimentar,

redução na mortalidade e redução da colonização intestinal por salmonella (AMMERMAN et al., 1988; 1989).

3.4 PROBIÓTICOS

O termo probiótico foi formalmente proposto em 1965, e atualmente designa: suplemento alimentar composto de cultura pura ou composta de microrganismos vivos com a capacidade de se instalar e proliferar no trato intestinal com ação de promotores de crescimento, beneficiando a saúde do hospedeiro pelo estímulo às propriedades existentes na microbiota natural. Em 1973, pesquisadores finlandeses observaram em frangos, que quando o conteúdo intestinal de aves adultas era ministrado para pintinhos de um dia, havia alteração da sensibilidade da *Salmonella spp*, prevenindo o estabelecimento desta no intestino e esse fato ficou conhecido como exclusão competitiva (NURMI; RENTALA, 1973; SILVA, 2000). O conceito moderno de probiótico foi definido por Fuller (1989) como sendo um suplemento alimentar constituído por microrganismos vivos capazes de beneficiar o hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal. Posteriormente, o mesmo autor ratificou a definição de probiótico como sendo microrganismos produzidos em larga escala, permanecendo estáveis e viáveis em condições de estocagem e sendo capazes de sobreviver no ecossistema intestinal possibilitando ao organismo do hospedeiro os benefícios de sua presença.

Os probióticos podem conter bactérias totalmente conhecidas ou quantificadas ou, culturas bacterianas não definidas. Os *Enterococcus*, os *Bacteróides*, os *Eubacterium*, os *Lactobaillus* e os *Bifidobacterium* estão presentes em todas as misturas de culturas definidas; e aparentemente, um número maior de espécies bacterianas determina um probiótico mais efetivo. A ação dos probióticos é essencialmente: a) competição por sítios de ligação também conhecida por exclusão competitiva caracterizando uma barreira física impedindo a proliferação de patógenos b) produção de agentes antibacterianos como ácidos orgânicos e enzimas; c) competição com as bactérias patogênicas por nutrientes, e d) estímulo do sistema imune. Existem outras ações benéficas que são atribuídas ao uso de probiótico em aves como a redução da produção de amônia, auxílio na redução de

aminas biogênicas tóxicas, e produção de vitaminas do complexo B (SILVA, 2000).

Os probióticos apresentam-se não como substitutos, mas como alternativas aos antibióticos promotores de crescimento (MACARI; FURLAN, 2005). A suplementação das dietas com agentes microbianos baseia-se no princípio da simbiose, em que há associação de organismos superiores com a microbiota bacteriana, proporcionando aos envolvidos, benefícios recíprocos (PEDROSO, 2003).

Close (2000) relata que os efeitos dos probióticos parecem ser mais consistentes e positivos em animais em crescimento do que em animais adultos e também que a variabilidade dos resultados das pesquisas realizadas com probióticos pode ainda estar associada às diferentes cepas, níveis de dose, condições de armazenamento, composição da dieta, estratégia de alimentação e interação com drogas. Uma vez que os probióticos são adicionados à ração para melhorarem o desempenho dos animais, estes não só necessitam produzir esses efeitos como também devem ser estáveis nos alimentos, resistentes aos antimicrobianos presentes nas rações, bem como no trato digestivo e seus ácidos digestivos (LANCINI, 1992). Os primeiros relatos do consumo de microrganismos, influenciando a saúde, foram realizados por METCHNIKOFF em 1907, ao observar que camponeses búlgaros apresentavam maior longevidade ao ingerir leite fermentado contendo *Lactobacillus bulgaricus* (SILVA, 2000; MACARI; FURLAN, 2005). Embora as formas de ação não sejam inteiramente claras, probióticos são introduzidos na flora intestinal como competidor contra as bactérias patogênicas inibindo suas atividades antagonistas (MUTUS et al., 2006). Para uma boa eficiência, devem-se utilizar os probióticos já nos primeiros dias de vida, para que ocorra a exclusão competitiva, principalmente beneficiando um bom equilíbrio entre os microrganismos benéficos e para se obterem, assim, melhores resultados (LORENÇON et al., 2007). Os resultados de pesquisas com probióticos, até o momento, são bastante contraditórios quanto à sua eficiência. Essa contradição observada entre os trabalhos justifica-se mediante os dados obtidos em relação à idade do animal, tipo de probiótico utilizado, viabilidade de microrganismos a serem agregados às rações e as condições de armazenamento delas (ARAÚJO et al., 2000). Os probióticos podem melhorar o aproveitamento dos alimentos e reduzir a excreção de nutrientes. O uso de probióticos com alta atividade enzimática fornece benefícios adicionais ao reduzir custo do suplemento enzimático (YU et al., 2007).

Recentemente, muitos tipos de probióticos foram comercialmente produzidos para a indústria animal e usados como aditivos na alimentação para melhorar a saúde animal, produtividade e custos de produção.

3.5 SIMBIOTICOS

A combinação de probiótico e prebiótico é denominada de simbiótico e constitui um novo conceito na utilização de aditivos em dietas para aves (JUNQUEIRA; DUARTE, 2005). A combinação entre probiótico e prebiótico poderia melhorar a sobrevivência do primeiro, pela disponibilidade do seu substrato. Isto resultaria em vantagens para o hospedeiro, tanto pela presença da flora benéfica quanto pela fermentação (IMMERSEEI et al., 2002).

Os oligofrutoses pertencem a uma classe de carboidratos denominados frutanos e são considerados ingredientes funcionais, uma vez que exercem influência sobre processos fisiológicos e bioquímicos no organismo, resultando em melhoria da saúde e em redução no risco no aparecimento de doenças entéricas. Gambá et al. (2006), realizaram um estudo com o objetivo de avaliar uma fonte simbiótica (probiótico + prebiótico) na ração inicial de avestruzes através da associação da lactose (soro de leite em pó) com lactobacilos (Biobac®) visando aumentar a viabilidade em sua idade mais crítica (1 a 28 dias de idade). Os autores recomendaram a utilização de até 5% de soro de leite em pó como fonte alternativa de lactose, em conjunto com 2,5g de Biobac como fonte de lactobacilos. A interação entre o probiótico e o prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico anterior ao consumo. Isto pode, em alguns casos, resultar em uma vantagem competitiva para o probiótico, se for consumido juntamente com o prebiótico. Alternativamente, esse efeito simbiótico pode ser direcionado às diferentes regiões-alvo do trato gastrointestinal, o intestino delgado e grosso (SAAD, 2006).

Pesquisas revelam que a ingestão de leveduras inativas ou de suas paredes celulares purificadas favorece a instalação no intestino de bactérias lácticas probióticas, impedindo a colonização de *Salmonella typhymurium*, sendo importante destacar que a levedura desidratada tem características prebióticas devido à

estrutura de sua parede celular (DEMATTÊ, 2004).

Em um estudo de caráter preliminar realizado por Santos et al. (2007) com frangos de corte para avaliar a eficácia de um simbiótico no controle de *Salmonella enteritidis*, foi observado que os animais dos lotes tratados com simbiótico apresentaram inibição de crescimento microbiano frente aos não tratados com simbiótico. Macari e Maiorka (2000), também trabalhando com frangos de corte, observaram que aves tratadas com simbiótico a base de *Saccharomyces cerevisiae* e *Bacillus subtilis* apresentaram maiores ganho de peso e melhor conversão alimentar aos 42 dias de idade do que aves que não receberam ração suplementada. Fukuta et al. (1999) (apud SILVA, 2000), demonstrou os efeitos benéficos da associação de microbiota cecal com frutoligossacarídeo. Essa mistura levou a uma redução da colonização por *Salmonella Enteritidis* no ceco de frangos inoculados experimentalmente aos 21 dias. Ainda foram observados benefícios na associação de cultura anaeróbia cecal com lactose, reduzindo a colonização por *Salmonella Enteritidis* no ceco de frangos desafiados no segundo dia de vida, Corrier et al. (1991). A utilização de prebiótico, contendo mananoligossacarídeo, mostrou ser uma alternativa aos antibióticos para a criação de frango de corte, pois segundo Rostagno et al. (2003) os resultados de desempenho não diferiram entre si.

3.6 QUALIDADE DE CARNE DE FRANGO

a) Cor

Segundo Allen et al. (1998), a cor afeta diretamente a aparência da carne tornando-se um atributo crítico na avaliação inicial da qualidade pelo consumidor e influencia sua decisão de compra. A percepção visual precede a apreciação das características de odor, sabor e textura e, assim, quando a variação da cor da carne é maior do que a esperada, normalmente o produto é rejeitado pelo consumidor (FLETCHER; QIAO; SMITH; 2000; QIAO et al., 2001). A cor observada na superfície das carnes é o resultado da absorção seletiva da luz pela mioglobina e por outros importantes componentes presentes, como as fibras musculares e suas proteínas, bem como pela quantidade de líquido livre presente (OLIVO; GUARNIERI;

SHIMOKOMAKI, 2001; SWATLAND, 2008). Segundo estes autores, quanto maior o grau de desnaturação protéica, menos luz é transmitida através das fibras e mais luz acaba sendo dispersa, resultando na palidez da carne. Os parâmetros utilizados para avaliação da cor da carne segundo o Sistema CIELab consistem em luminosidade (L^*), teor de vermelho (a^*) e teor de amarelo (b^*). O valor L^* representa o parâmetro luminosidade no eixo perpendicular e varia de zero a 100, sendo zero o preto e 100 o branco. O valor a^* representa a faixa de cor no eixo horizontal, variando do verde para o vermelho. O valor b^* é o eixo vertical e varia do azul para o amarelo. L^* é o principal parâmetro utilizado para determinação da cor da carne de frango. Segundo Olivo, Guarnieri e Shimokomaki (2001), para carne de frango e peru, a faixa ideal de luminosidade deve estar em torno do valor 50.

b) Capacidade de Retenção de Água

A capacidade de reter água é uma importante propriedade funcional da carne fresca, pois influencia seu aspecto, sua palatabilidade e interfere diretamente na qualidade de produtos processados (BARBUT, 1997a; MELODY et al., 2004). A perda de água incorre em prejuízos econômicos para a indústria, em decorrência da perda de peso, e do valor nutritivo para o consumidor, devido a quantidade significativa de proteína que é carregada junto com a água (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

A maior parte da água no músculo está presente nas miofibrilas, nos espaços entre os filamentos grossos de miosina e os filamentos finos de actina (LAWRIE, 2005) e é mantida entre estes filamentos por forças capilares (OFFER; TRINICK, 1983). De acordo com Huff-Lonergan e Lonergan (2005), o mecanismo da capacidade de retenção de água está centrado nas proteínas e estruturas que ligam e imobilizam a água, especialmente as proteínas miofibrilares. Segundo os mesmos autores existem evidências que demonstram haver um efeito direto do pH, da força iônica e da oxidação na capacidade das proteínas miofibrilares, das miofibrilas e das células musculares em reter água. Um rápido declínio de pH associado à alta temperatura do músculo, como ocorre no PSE, leva a desnaturação das proteínas miofibrilares resultando em severa queda da capacidade destas estruturas de reter água (WISMER-PEDERSEN, 1959). Os métodos de referência para determinar a capacidade de retenção de água da carne consistem nas perdas de água por

exsudação da carne crua e as perdas de água durante o cozimento (HONIKEL, 1998).

c) Maciez

A maciez é o principal atributo de qualidade que influencia a satisfação do consumidor em relação à palatabilidade da carne. Miller et al. (2001) demonstraram que o consumidor é capaz de discernir variações de maciez na carne e está disposto a pagar mais por carnes que apresentem melhores características. O grau de maciez pode ser relacionado a 3 categorias de proteínas do músculo; do tecido conjuntivo, do sarcoplasma e da miofibrila, e a importância de sua relativa contribuição depende de circunstâncias como o grau de contração das miofibrilas, o tipo de músculo e a temperatura de cozimento (LAWRIE, 2005). As proteínas que compõem o tecido conjuntivo, principalmente colágeno e elastina, formam uma complexa rede entre as fibras musculares e são importantes para a textura da carne (SWATLAND, 1994). Coro et al. (2002) encontraram uma correlação positiva entre a idade de abate dos animais e o número de ligações cruzadas termoestáveis (piridinolina) de colágeno, responsáveis pelo aumento da dureza da carne com o avanço da idade dos animais (CORO et al., 2002). As proteínas sarcoplasmáticas (enzimas glicolíticas, creatina quinase e mioglobina) são solúveis em água e contribuem pouco para a textura da carne (LAWRIE, 2005). De acordo com Koochmaraie e Geesink (2006) o enfraquecimento da estrutura miofibrilar decorrente da degradação *postmortem* de proteínas miofibrilares é o principal fator contribuinte para a tenderização da carne. Segundo Robson et al. (1997), as proteínas envolvidas neste processo são miofibrilares e citoesqueléticas e incluem: troponina T, desmina, vinculina, meta-vinculina, distrofina, nebulina e titana. A atividade da enzima endógena μ -calpaína é apontada como a principal responsável pela degradação de proteínas miofibrilares que determinam a variação da maciez da carne (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006).

Entre os métodos utilizados para determinar a maciez da carne, destacam-se a força de cisalhamento (BRATZLER, 1949) e o índice de fragmentação miofibrilar (MFI). Os valores de MFI são baseados na quantidade de refração de luz que ocorre na suspensão de miofibrilas. Quando os valores aumentam existe um correspondente aumento do número de partículas em

decorrência da fragmentação da estrutura miofibrilar pela atuação de enzimas proteolíticas (VEERAMUTHU; SAMS, 1999).

3.6.1 Transformação do Músculo em Carne

O processo de conversão do músculo em carne envolve modificações metabólicas, físicas e estruturais (KUBOTA; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 1993). Com a morte e, por conseqüência, com a falência do fluxo sangüíneo, o aporte de oxigênio e o controle nervoso deixam de chegar à musculatura. O nível de ATP é mantido por conversão do ADP a ATP (fosfocreatina + ADP + creatina + ATP), mas quando a fosfocreatina é exaurida, seguida pelas reservas de glicogênio e outros carboidratos, o ATP, rico em energia, é esgotado. Quando acabam as reservas de ATP celular, o músculo não consegue mais relaxar (*rigor mortis*) e a concentração de cálcio no citoplasma permanece alta. A glicólise *postmortem* ocorre em um ambiente celular anaeróbico, onde o glicogênio é transformado em ácido pirúvico e este é convertido em ácido láctico, que se acumula no interior das células (PEARSON; YOUNG, 1992; LAWRIE, 2005). Como resultado, os prótons que são produzidos durante a glicólise e durante a hidrólise de ATP a ADP causam diminuição significativa do pH intracelular (BATE-SMITH; BENDALL, 1949).

Imediatamente após a morte do animal, com temperatura entre 38-40°C, sem estímulo nervoso e com uma quantidade suficiente de ATP presente, os íons Ca^{2+} são ativamente transportados para o retículo sarcoplasmático pelo sistema bomba de cálcio-ATP. As mitocôndrias também armazenam cálcio no músculo vivo, que é proveniente do sarcoplasma em presença de oxigênio. Com a queda do pH, ATP, temperatura e ausência de oxigênio, as mitocôndrias liberam cálcio para o sarcoplasma ao mesmo tempo em que a atividade da bomba de cálcio diminui. A concentração de cálcio nas miofibrilas aumenta dando início ao processo de contração, similar à estimulação nervosa que induz a contração do músculo vivo. Na contração muscular *postmortem* enquanto a reserva energética na forma de ATP for suficiente, os miofilamentos mantêm-se móveis e por esta razão o músculo é elástico. Quando o nível de ATP reduz, ou seja, diminui a energia para o processo de deslizamento dos miofilamentos, começa a formação de enlaces ou pontes

permanentes entre actina e miosina, o músculo perde a elasticidade e entra em *rigor mortis* (SWATLAND, 1994).

Após o estabelecimento do *rigor mortis* começa o processo de resolução do rigor (maturação da carne). A resolução do rigor é caracterizada pelo amaciamento progressivo da carne pela ação de enzimas que hidrolisam as proteínas musculares, provocando o desprendimento dos filamentos de actina da linha Z. As principais mudanças que ocorrem nas células durante a resolução do rigor são: degradação da linha Z, desaparecimento da troponina T e degradação das proteínas estruturais desmina, titana e nebulina. A lise destas proteínas provoca o enfraquecimento da linha Z (KOOHMARAIE, 1988; KOOHMARAIE; GEESINK, 2006).

3.6.2 Estresse

O termo estresse é utilizado para designar o conjunto de reações do organismo animal a agressões de ordem física e psíquica capazes de perturbar a homeostase. Estas reações são acompanhadas pela liberação de hormônios como catecolaminas, epinefrina e norepinefrina (SHIMOKOMAKI et al., 2006). O mecanismo metabólico pelo qual o animal resiste ao estresse e retorna a homeostase é a liberação do hormônio corticosterona que converte as proteínas em glicose nas células do músculo, cujo processo é conhecido como gliconeogênese (SIEGEL, 1995).

Os principais fatores responsáveis por desencadear em aves liberações de catecolaminas e causar alterações fisiológicas características do estresse no período pré-abate são: intervalo de jejum e dieta hídrica (SAMS; MILLS, 1993), transporte (WARRIS et al., 1993) e temperatura do ambiente (NORTHCUTT et al., 1994; SANDERCOCK et al, 2001; BRESSAN; BERAQUET, 2002; DEBUT et al., 2003).

3.6.3 Carne pálida, Flácida e Exsudativa, PSE

Um dos maiores problemas enfrentados pela indústria processadora é a questão da carne PSE, cujo termo tem origem nas iniciais das palavras inglesas Pale, Soft, Exudative, que significam carne pálida, flácida e exsudativa (DIRINCK et al., 1996). A ocorrência de PSE é multifatorial e está relacionada com manejo pré abate estressante, rápido desenvolvimento muscular, temperatura ambiental elevada (LARA et al. 2003; SOLOMON; VAN LAACK; EASTRIDGE, 1998), transporte (SIMÕES et al. 2009), nutrição (OLIVO et al. 2001), genética (ODA et al. 2009, ZIOBER et al. 2009) alterações na atividade da fosfolipase A2 (SOARES et al. 2003), sugerindo assim uma complexa interação de fatores genéticos e ambientais e mostrando dessa forma um complexo mecanismo que culmina com o problema das carnes PSE.

Segundo Swatland (2008) a dispersão de luz de uma superfície muscular é diretamente proporcional à sua quantidade de desnaturação protéica, interferindo na aparência física da carne, influenciando a quantidade de luz que lhe é refletida. Carnes com valores de pH baixos tem refletância mais acentuada enquanto que com pH elevados apresentam maiores transmitância. As diferenças no índice de refração entre os raios de luz normal e anormal nas fibras são maiores em pH baixo do que em pH elevado do peito de frango. Assim a refração miofibrilar contribui para as diferenças no espalhamento da luz entre PSE e DFD não só em frangos como também em suínos e bovinos. Quanto maior o grau de desnaturação protéica, menos luz é transmitida através das fibras e mais luz acaba sendo dispersa, o que leva à palidez da carne (OLIVO et al., 2001). A desnaturação protéica é provocada em condições de valor de pH relativamente baixo enquanto a carcaça está quente trazendo conseqüências nas propriedades funcionais da carne principalmente na capacidade de retenção de água (CRA) (OFFER; KNIGHT, 1988). Segundo Fletcher (1999), a ocorrência de PSE está relacionada com acúmulo excessivo de líquido nos produtos embalados, devido à sua menor capacidade de retenção de água, o que diminui a aceitação do produto pelo consumidor. O comprometimento das propriedades funcionais da carne PSE pode resultar em produtos industrializados de pouco rendimento (LARA et al., 2002), devido à liberação de exsudato, o que interfere na padronização durante a industrialização (BARBUT, 1997). Desta forma,

segundo Fernandez et al. (2002), o rendimento após o processamento da carne é altamente relacionado com a velocidade da queda de pH *post mortem*, de modo que uma diferença de uma unidade a menos no pH aferido aos 20 minutos *post mortem* corresponde a cerca de 2% a menos no rendimento após o processamento da carne. A capacidade de retenção de água da carne, por sua vez, exerce grande influência na maciez da carne (BRESSAN, 1998), já que na carne PSE a capacidade de retenção de água é menor, e quanto menor a quantidade de água no músculo, menor a maciez da carne (ANADÓN, 2002). De acordo com Dransfield e Sosnicki (1999), a carne PSE possui também menor potencial proteolítico *post mortem*, o que contribui para a diminuição da maciez da carne. Segundo estes autores, o rápido declínio de pH, a altas temperaturas da carcaça, inativa o sistema calpaína e reduz o amaciamento *post mortem* da carne.

O fenômeno PSE, portanto, é prognosticado pela combinação de análises de pH, cor e capacidade de retenção de água nos músculos do peito (SWATLAND, 1995). De acordo com Lara et al. (2002), o fenômeno PSE em frangos pode ser detectado pela combinação dos valores de pH (abaixo de 5,8) e cor (valor L* acima de 52,0) aferidos em 24 horas após o abate. Fatores como estresse (OLIVO, 1999), tipo de atordoamento (SAMS, 1999) e temperatura de resfriamento (DUNN et al., 1995; VIEIRA, 1999) podem levar ao desencadeamento da condição PSE em aves.

As condições PSE em suínos resultaram de uma taxa de glicólise *post mortem* extremamente elevada, que reduziu o pH muscular, geralmente inferior a 5,8 enquanto a carcaça ainda está quente, ao redor de 35°C aos 45 min *post mortem*. Essa rápida queda do pH provoca desnaturação das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas e ocasionou excessiva perda de exsudato (BENDALL; WISMER-PERDERSEN, 1962) com prejuízos às propriedades funcionais da carne (CANDEK-POTOKAR et al., 1998; BREWER; McKEITH, 1999). Em aves, o PSE tornou-se relevante devido o rápido crescimento da produção de industrializados que despertou o interesse em pesquisar as características bioquímicas das carnes de aves (BARBUT, 1997a, 1997b, 1998). Sendo que a sua ocorrência começou a ser constatada no final da década de 70 com algumas publicações sobre o assunto. Froning et al. (1978) verificaram que carnes de perus expostos a situações de estresse pré-abate, como aquecimento ou agitação, exibiram um acelerado declínio do pH.

A ocorrência de carnes PSE em frangos merece uma investigação com destaque, uma vez que pode alcançar de 30 a 50% dependendo das condições de manejo pré-abate (WOELFEL et al., 2002). No Brasil, Soares et al. (2002) verificaram a ocorrência de PSE em filés de peito de frangos em um abatedouro na região oeste de Santa Catarina em duas estações do ano. No inverno a ocorrência de PSE em filés de peito (n= 353) foi de 22,3% e no verão (n= 811) foi de 15,9%. Em trabalho mais recente, realizado em um abatedouro na região oeste do Paraná no verão, Langer et al. (2008) avaliaram o efeito das distâncias de transporte de frangos de 4 km (n= 300) e 62 km (n= 300) e encontraram uma ocorrência de PSE em filés de peito de 22 e 32%, respectivamente. Porém, os fatores que ocasionaram esta ocorrência não foram investigados. Mitchell et al. (2003) relataram que a intensa seleção genética, as rápidas taxas de crescimento e os manejos de produção visando obter altos níveis de produtividade foram associados a alterações na função celular muscular de frangos. As aves são susceptíveis a desenvolverem miopatias por distúrbios nos componentes do sistema de regulação do cálcio sarcoplasmático com conseqüente ruptura do sistema de homeostase do cálcio e danos musculares. Porém, os fenômenos causadores destas miopatias e danos musculares ainda não foram bem esclarecidos. Berri et al. (2001) e Bihan-Duval et al. (2001) sugeriram que a seleção genética para o crescimento e desenvolvimento do músculo *Pectoralis major* de frangos não ocasionou impacto negativo sobre a qualidade deste, embora estes procedimentos causem mudanças no metabolismo *post mortem*. A condição PSE em aves foi caracterizada pelo processo de *rigor mortis* acelerado, com pH final em torno de 5,8 e temperatura muscular acima de 35°C, o que ocasionou desnaturação das proteínas miofibrilares (SOSNICKI et al., 1998). Olivo et al. (2001) constataram que em frangos, o pH final pode atingir valores abaixo de 5,8 em até 15 min *post mortem*, enquanto que em suínos o pH final em torno de 5,8 é atingido 45 min *post mortem*. Nestas condições Guarnieri et al. (2002) observaram desnaturação parcial das proteínas miofibrilares com redução da capacidade de retenção de água e conseqüente exsudação, resultando em uma carne com aspecto de superfície molhada. As condições de manejo pré-abate a que são submetidas às aves, como jejum alimentar, apanha, transporte, temperatura e umidade relativa do ambiente são fatores que conduzem ao estresse e influenciam a qualidade da carne com aumento na ocorrência do fenômeno PSE (SAMS, 1999). Em perus foi verificado que a ocorrência de PSE é maior nos meses de verão, devido à susceptibilidade das aves

ao estresse térmico que acelerou o metabolismo *post mortem* com alterações bioquímicas no músculo (MCCURDY et al., 1996; MCKEE; SAMS, 1997; BARBUT, 1998). A desestruturação da microestrutura muscular de carne de frangos foi estudada por Wilhelm et al. (2009) onde verificaram que o aumento da concentração de Ca^{2+} que ocorre nas carnes PSE promove adicionalmente o aumento da atividade de proteases que alteram a estrutura das fibras musculares.

Guarnieri et al. (2004), observaram que as aves que recebiam aspersão de água no período pré abate, diminuía o estresse devido a melhora da sensibilidade térmica sentida pelas aves e que acarretavam em uma queda na incidência de carnes PSE no período post-mortem. Simões et al. (2009) demonstraram que o microambiente formado no caminhão de transporte de frangos, da granja ao abatedouro pode ser a causa primária que compromete o bem estar das aves e a qualidade final da carne com o desenvolvimento de PSE.

Olivo et al. (2001) demonstraram que frangos susceptíveis ao estresse térmico apresentaram desenvolvimento de carnes PSE, sendo que estas foram caracterizadas por propriedades funcionais comprometidas. Além disso, verificaram que a suplementação de vitamina E na dieta de frangos preveniu o desenvolvimento de carnes PSE devido a inibição da atividade da fosfolipase A2 (PLA2).

Soares (2003) verificou a ativação da PLA2 em situações de estresse, sendo que sua alta atividade foi considerada como o gatilho inicial para o surgimento de carnes PSE em frangos. Esta enzima influencia os eventos bioquímicos que ocorrem em suínos com hipertermia maligna (HM) e conseqüentemente na formação de carnes PSE. A PLA2 mitocondrial é ativada pelo Ca^{2+} e hidrolisa os fosfolípidios da membrana, formando ácidos graxos insaturados de cadeia longa. Estes produtos induzem o retículo sarcoplasmático a liberar mais Ca^{2+} ocasionando a perda de controle da glicólise e conseqüente formação de carnes PSE, visto que o aumento do nível de Ca^{2+} no retículo sarcoplasmático está associado a elevada formação de ácido láctico (CHEAH; CHEAH, 1981). As carnes PSE de aves, assim como a de suínos apresentam suas propriedades funcionais comprometidas, devido à acelerada queda de pH enquanto a carcaça apresenta temperaturas elevadas, o que implica em desnaturação protéica (LARA, 2003). As proteínas são as principais responsáveis pelas características funcionais das matérias-primas cárneas (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

3.6.4 Origem Genética

As características destas carnes PSE em suínos são resultados da manifestação da síndrome do estresse suíno – *Porcine Stress Syndrome* (PSS) (CHEAH et al., 1984) ou Hipertermia Maligna (HM) (FUJII et al., 1991), cujo estresse foi desencadeado por fatores ambientais e fisiológicos, como mudanças na temperatura ambiente, excitação, transporte e exercícios que podem levar à morte inesperada dos animais (CHEAH; CHEAH, 1981; CHEAH et al., 1984). Estudos com suínos mostraram a relação entre carnes PSE e PSS, a qual foi relacionada com excessiva liberação nas células de íons Ca^{2+} durante a contração muscular, ocasionando um rápido metabolismo anaeróbico e rigidez do músculo (MITCHELL; HEFFRON, 1982; BERTOL, 2005). Essa relação foi comprovada por Fujii et al. (1991) que detectaram um ponto de mutação no gene *ryr1*, responsável por codificar a proteína denominada receptora de rianodina do tipo 1 (RyR1) ou canal liberador de íons Ca^{2+} localizado no retículo sarcoplasmático do músculo esquelético (O'BRIEN, 1995). Quanto ao PSE em frangos, não há confirmação de equivalência com a PSS em suínos (SANTOS et al., 2004). Porém, Marchi et al. (2009), observaram ao desenvolver uma câmara de halotano para testes de detecção de sensibilidade ao gás em aves, que as aves que apresentaram enrijecimento dos membros inferiores eram denominados halotano positivo e que as análises de peito de frango oriundas das aves positivas para o teste, apresentaram maior incidência ao desenvolvimento de PSE, assim como ocorre em suínos. Nesse sentido, Ziober et al. (2009), avaliaram o seqüenciamento da αRYR em frangos, que poderá servir como base de estudos futuros, atentando para a possibilidade de mutações nesse gene no desencadeamento de problemas que levam a carne PSE em frangos de corte. Oda et al. (2009) demonstraram que as proteínas $\alpha\text{-RyR}$ e $\beta\text{-RyR}$ apresentam papéis distintos no mecanismo de excitação-contração muscular com diferenças em seus mecanismos de ativação e respostas a ligantes e que uma diferença na proporção (1:1) de $\alpha\text{-RyR}$ e $\beta\text{-RyR}$ indicam uma evidencia de carnes PSE.

3.6.5 Rancidez Oxidativa e PSE

A oxidação lipídica é considerada a principal causa da perda de qualidade das carnes e produtos cárneos por ser um processo de degradação que afeta diretamente a sua aceitabilidade.

A rancidez inicia-se logo após a morte do animal e afeta a cor, sabor, textura e valor nutritivo das carnes (MORRISSEY et al., 1998). Os principais substratos para o desenvolvimento da oxidação são os ácidos graxos insaturados provenientes dos fosfolipídios e triglicerídeos presentes nas membranas celulares. Estes ácidos graxos através da ação de catalisadores como metais pesados, luz, temperatura e oxigênio iniciam o processo de autooxidação e dão origem aos radicais livres, que são substâncias instáveis e atacam outros ácidos graxos, proteínas, vitaminas e o DNA (ST ÂNGELO, 1996). Entretanto, existem condições para hipotetizar o desencadeamento da origem dessa oxidação. Trata-se do seu desenvolvimento conforme o descrito na Fig 1 e discutido por Soares et al. (2005, 2009). O estresse provoca ativação da enzima fosfolipase A2 e a sua maior atividade seria o fator iniciante do surgimento dos sintomas característicos das carnes PSE, ou seja, provenientes de aves que sofreram estresse térmico pré-abate (SOARES et al. 2003b). A fosfolipase A2 é uma enzima lipolítica que atua sobre os fosfolipídios das membranas liberando o ácido araquidônico (MURAKAMI; KUDO, 2002). Este ácido graxo é polinsaturado e sofre oxidação produzindo radicais livres, que por sua vez podem oxidar os pigmentos e vitaminas, provocar danos ao DNA e proteínas e formar produtos que contribuem para o sabor e odor indesejáveis, além de formar produtos tóxicos à saúde humana como o malonadeído e os óxidos de colesterol.

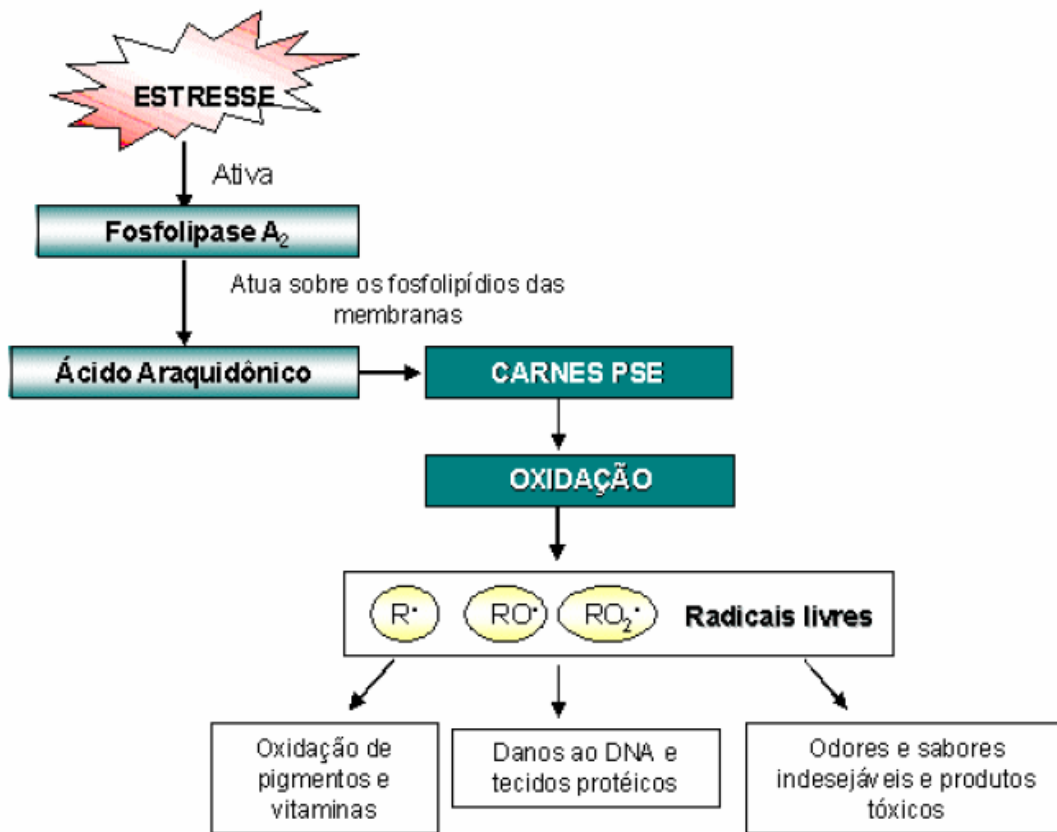


Figura 1 – Hipótese para explicar a relação entre carnes PSE e oxidação lipídica. Soares et al. (2005).

3.6.6 Proteases

Três sistemas proteolíticos presentes no músculo têm sido investigados por sua possível participação na proteólise e tenderização *postmortem*: o sistema calpaína, as catepsinas lisossômicas e o complexo multicatalítico de proteases (proteasoma) (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006).

Além de serem endógenas no músculo esquelético, estes sistemas proteolíticos precisam ter acesso aos substratos e, finalmente, serem capaz de reproduzir o padrão proteolítico *postmortem* observado no armazenamento da carne (GOLL et al., 1983; KOOHMARAIE, 1988). Um papel significativo do proteasoma pode ser excluído, já que as miofibrilas são pobres substratos para este sistema proteolítico (KOOHMARAIE, 1992a). A incubação de proteínas miofibrilares com catepsinas resulta em diferentes padrões de degradação em relação àqueles que

ocorrem durante o armazenamento *postmortem* do músculo, como a quebra da junção da banda I com a linha Z. Além disto, é duvidoso que as catepsinas sejam liberadas dos lisossomos no músculo *postmortem* (KOOHMARAIE, 1988). Sendo assim, o sistema calpaína é o sistema proteolítico responsável pela proteólise *postmortem* de proteínas miofibrilares que resultam no amaciamento da carne (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006).

As calpaínas desempenham diversas funções nas células, incluindo participação no ciclo mitótico e crescimento celular, modificações proteolíticas de moléculas, regulação de expressões gênicas, regulação da proliferação celular e degradação de substratos durante a apoptose (GOLL et al., 2003). Estudos de imunolocalização têm mostrado que as calpaínas possuem localização exclusivamente intracelular. No músculo esquelético normal a maioria das calpaínas e da calpastatina está localizada sobre ou próximo à linha Z, com pequenas quantidades na banda I e muito pouco na área da banda A (KUMAMOTO et al., 1992). Estudos sugerem que em resposta a algum sinal da célula, possivelmente fluxo de íons Ca^{2+} , as calpaínas se realocam de uma distribuição dispersa, para uma localização preferencial na periferia da célula (SAIDO et al., 1993; GIL-PARRADO et al., 2003). Kumamoto et al. (1992) sugerem que uma porção substancial das calpaínas não está livre no citoplasma, mas sim associadas às subestruturas celulares, como as miofibrilas.

O sistema calpaína é composto de proteases ativadas pelo cálcio com atividade ótima em pH neutro. No músculo esquelético, o sistema calpaína consiste de pelo menos três proteases: μ -calpaína (calpaína 1), m-calpaína (calpaína 2) e calpaína músculo-específica ou p94 (calpaína 3); e um inibidor da μ - e m-calpaína, a calpastatina (GOLL et al., 2003).

Ambas μ - e m-calpaína são compostas de duas sub-unidades com massa molar de 28 e 80 kDa (DAYTON et al., 1976; EMORY et al., 1986). Uma importante característica da μ - e m-calpaína é que elas sofrem autólise na presença de cálcio, o que as transformam em moléculas consideravelmente menos estáveis. A autólise reduz a necessidade de cálcio para a ativação da μ - e m-calpaína e pode ser usada como indicador da atividade proteolítica na célula (DAYTON, 1982; GOLI et al. 2003). As calpaínas são cataliticamente inativas na ausência de Ca^{2+} (GOLL et al. 2003).

3.6.7 Proteases na Carne PSE

A perda da homeostase gerando níveis elevados de cálcio, como acontece no PSE, leva a um aumento da sua concentração intracelular e ativa as calpaínas. Segundo Goll et al. (2003), a perda da homeostase do cálcio resulta no rompimento de alguns processos fisiológicos que regulam a atividade das calpaínas nas células e conduz a uma atividade desregulada das mesmas.

Claeys et al. (2001) hipotetizaram que um rápido declínio de pH da carne suína, acompanhado de aumento na concentração de íons Ca^{2+} , resulta em ativação e autólise prematura da μ -calpaína, com subsequente menores níveis de atividade durante o prolongamento do período *postmortem*. Melody et al. (2004) verificaram maior taxa de ativação da μ -calpaína aos 45 min e 6h *postmortem* em músculo suíno que apresentava rápida queda de pH em relação ao normal e, conseqüentemente, obtiveram maior taxa de degradação de desmina e talina nestes mesmos tempos. Estes autores também relataram menor força de cisalhamento 24h *postmortem* no músculo com rápida queda de pH, no entanto, esta diferença em relação ao músculo normal não foi observada 48h e 120h *postmortem*. Rowe et al. (2001a) verificaram que em *Longissimus dorsi* suíno, com baixo pH em 2 h, houve grande taxa de ativação e autólise da μ -calpaína e conseqüente prematura degradação de desmina e troponina T (24h *postmortem*) em relação ao músculo normal. Neste mesmo sentido, O'Halloran et al. (1997) relataram maior taxa ativação da μ -calpaína (3h *postmortem*) em músculo *Longissimus dorsi* bovino com alta taxa de glicólise e rápida queda de pH. Também foi observada maior taxa de proteólise de desmina e troponina T medidas 24h *postmortem*, além de maior maciez obtida por força de cisalhamento e análise sensorial. Boles et al. (1992) verificaram que a taxa de degradação *postmortem* da titana e da nebulina foi substancialmente reduzida no músculo PSE de suínos em comparação ao normal após 7 dias de armazenamento. Similarmente menor degradação *postmortem* da linha Z também foi observada no músculo *Longissimus dorsi* PSE. Ambos os fenômenos podem ser explicados por alterações no sistema calpaína/calpastatina resultando em menor proteólise *postmortem* em músculos PSE em comparação ao normal durante o prolongamento do período *postmortem* (BOLES et al., 1992). Bee et al. (2007) demonstraram que a ativação da μ -calpaína ocorre mais cedo em carne suína com

rápido declínio de pH, o que eventualmente resultaria em uma prematura perda da atividade proteolítica, e explicaria a menor degradação de desmina e talina obtidas 24h, 48h e 120h *postmortem* nesta carne. Pesquisas da relação entre atividade proteolítica e o PSE em aves são raras na literatura. No entanto, em suínos, está bem evidenciado que a taxa de declínio de pH durante as primeiras horas após a sangria influencia a taxa de ativação da μ -calpaína e pode ter um papel fundamental na regulação da atividade proteolítica no início do período *postmortem*, implicando conseqüências para a capacidade de retenção de água e a maturação no prolongamento do período *postmortem* (MELODY et al., 2004; ROWE et al., 2001a; O'HALLORAN et al., 1997; BOLES et al., 1992; BEE et al., 2007).

Ultraestruturalmente, Soares (2003) observou, em filés de frango PSE 72h *postmortem*, espessamento das linhas Z, desaparecimento da banda I e diminuição do tamanho do sarcômero. No entanto houve o surgimento de lacunas no sarcômero e em alguns casos a linha Z perdeu sua integridade apresentando-se descontinuada. Guarnieri et al. (2004), através de técnicas microscópicas, constataram que em frangos tratados com nebulização de água antes do abate com o objetivo de prevenir o desenvolvimento de carnes PSE, o sarcômero apresentou estrutura organizada e a linha Z estava enfraquecida devido à atividade das proteases. Porém, no grupo não tratado a estrutura do sarcômero apresentou-se desorganizada e a linha Z mais pronunciada. Pospiech, Greaser e Sosnicki (1995) relataram danos mais extensos das titanas nas miofibrilas de músculo normal de peru 24h *postmortem* em comparação com os encontrados em amostras PSE.

Miofibrilas normais frequentemente tinham linhas Z ausentes enquanto nas amostras PSE de peru a linha Z geralmente permanece intacta.

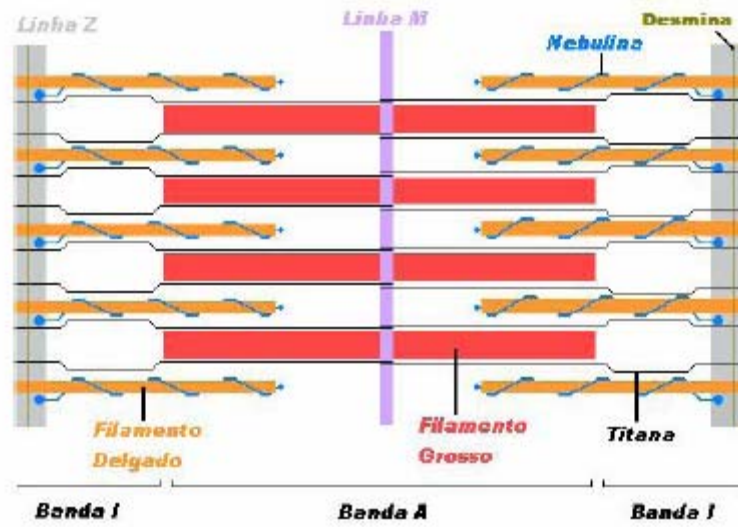


Figura 2 – Esquema representativo do sarcômero e algumas de suas proteínas estruturais: nebulina, titana e desmina (WILHEM, 2009).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar a ação do uso do probiótico, prebiótico e simbiótico na melhoria dos resultados zootécnicos e da qualidade de carcaça, o estudo foi realizado na granja experimental da empresa Big Frango localizada na cidade de Cambé - PR.

4.1 CRIAÇÃO DOS ANIMAIS

Foram utilizados 1500 pintainhos machos da linhagem Cobb, com um dia de idade, os quais receberam manejos tradicionais de uma criação comercial, com água e ração *ad libitum* durante todo o período experimental. As rações experimentais atenderam as exigências de Rostagno et al. (2005). Foi utilizada cama reutilizada, sexta remonta, visando aumentar o desafio de campo e imitar uma prática comum nas criações comerciais atuais. A ração utilizada foi do tipo farelada a base de milho e farelo de soja, as quais serão divididas em 3 fases: inicial (1 a 21 dias), crescimento 1 (21 a 28 dias), crescimento 2 (28 a 42 dias), conforme apresentada na tabela 1. A figura 3 apresenta uma foto parcial da estrutura montada para o teste na unidade experimental.

Tabela 1 – Composição percentual e calculada das rações experimentais para o teste com frangos de corte.

Ingredientes (%)	Fase Inicial 1-21 dias	Fase crescimento 21-28 dias	Fase acabamento 28-42 dias
Farelo de Milho	54,97	64,19	65,460
Soja Integral Desativada	11,88	10,69	22,991
Farinha de Carne e Ossos	6,71	6,61	5,552
Farinha de Penas	-	-	3,000
Farelo de Soja	24,01	16,73	12,40
Premix ¹	0,42	0,42	0,417
Sequestrante de Micotoxina (Milbond TX)	0,25	-	-
L-Lisina (78%)	0,32	0,32	0,338
Sal Comum	0,30	0,35	0,319
DL-Metionina (99%)	0,38	0,29	0,271
Calcário	0,04	-	0,128
L-Treonina	0,14	0,10	0,109
Cloreto Colina	0,08	0,06	0,073
Bicarbonato de sódio	0,21	-	-
Produto Inerte (Caolin)	0,3	0,3	0,1
Total	100	100	100
Nutrientes			
Proteína bruta (%)	21	19,50	18,50
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3.100	3.160	3.200
Fósforo disponível (%)	0,52	0,50	0,53
Cálcio	1,01	0,98	1,05
Metionina+Cistina (%)	0,95	0,88	0,83
Metionina (%)	0,64	0,59	0,56
Lisina (%)	1,32	1,21	1,12

¹Composição do produto - **Inicial:** iodo 273 (mg/kg), selênio 59,28 (mg/kg), manganês 15.500 (mg/kg), zinco 18.250 (mg/kg), vit A 1.900.000 (UI/kg), vit D 600.000 (UI/kg), vit E 2.500 (mg/kg), vit K 98 (mg/kg), vit B1 356 (mg/kg), vit B2 1.600 (mg/kg), vit B6 693 (mg/kg), vit B12 2.200 (mg/kg), ácido pantotênico 1.710 (mg/kg), niacina 15.840 (mg/kg), biotina 32 (mg/kg), ácido fólico 148 (mg/kg), colina 144.000 (mg/kg), cobre 25.000 (mg/kg), enxofre 2,33 (%). **Crescimento:** iodo 260 (mg/kg), selênio 54,72 (mg/kg), manganês 18.600 (mg/kg), zinco 18.250 (mg/kg), vit A 1.400.000 (UI/kg), vit D 600.000 (UI/kg), vit E 2.000 (mg/kg), vit K 98 (mg/kg), vit B1 356 (mg/kg), vit B2 1.600 (mg/kg), vit B6 693 (mg/kg), vit B12 3.200 (mg/kg), ácido pantotênico 1.900 (mg/kg), niacina 5.940 (mg/kg), biotina 32 (mg/kg), ácido fólico 40 (mg/kg), colina 144.000 (mg/kg), cobre 25.000 (mg/kg), sódio 1,5 (%), enxofre 3,90 (%) e ferro 5.400 (%). **Acabamento:** iodo 195 (mg/kg), selênio 118,56 (mg/kg), manganês 30.720 (mg/kg), zinco 16.060 (mg/kg), vit A 1.400.000 (UI/kg), vit D 100.000 (UI/kg), vit E 400 (mg/kg), vit K 196 (mg/kg), vit B2 672 (mg/kg), vit B12 2.000 (mg/kg), ácido pantotênico 3.800 (mg/kg), colina 144.000 (mg/kg), cobre 3.200 (mg/kg) e enxofre 2 (%).

4.2 OS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS CONSISTIRAM EM:

- a) Grupo Controle – sem adição de qualquer aditivo;
- b) Grupo Avilamicina – com adição de promotor de crescimento antibiótico avilamicina 10 ppm em todas as fases nutricionais, produto Surmax® da empresa Elanco;
- c) Grupo Probiótico - Com adição de probiótico (*Bacillus Subtilis*) 30g/tonelada em todas as fases nutricionais, produto Calsporin® da Calpis global.
- d) Grupo Prebiótico - Com adição de prebióticos (mananoligossacarídeo); 2kg/ tonelada em todas as fases nutricionais, produto da BioSyn®
- e) Grupo Simbiótico - Com adição de simbiótico (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, mananoligossacarídeo e frutooligossacarídeo), 3kg/tonelada na fase inicial; 2kg/tonelada na fase de crescimento e 1kg/tonelada na fase de abate; BioSyn®

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foi adotado um delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 6 repetições, com 50 aves por parcela experimental, totalizando 1500 aves, conforme demonstrado na figura 3.



Figura 3 – Alojamento das aves em boxes na unidade experimental.

4.4 ÍNDICES ZOOTÉCNICOS

4.4.1 Ganho de Peso Diário (GPD)

Foi calculado dividindo-se o ganho de peso em cada período (0 -42 dias) dividido pela quantidade de dias que corresponde a cada período e pelo número de aves.

4.4.2 Consumo de Ração Diário (CRD)

Foi obtido através do consumo de ração em cada período (1-21 dias e 1-42 dias), dividido pelo número de dias deste e pelo número de aves.

4.4.3 Conversão Alimentar (C.A.)

Foi calculado através da divisão do consumo de ração no período pelo ganho de peso das aves no período.

4.4.4 Viabilidade (V)

Viabilidade - foi calculado dividindo-se o número atual de animais existentes, pelo número de animais que foram alojados com um dia de idade, multiplicado por 100.

4.4.5 Índice de Eficiência Produtiva (IEP)

$IEP = GPD \times V/CA \times 10$, em que: GPD = ganho peso diário; V = viabilidade e CA = conversão alimentar.

4.5 RENDIMENTO DE CARÇA E CORTES

No final do experimento, aos 42 dias, foram colhidas duas aves de cada parcela experimental e estas foram pesadas individualmente e selecionadas com objetivo de representar o peso médio da parcela experimental. Estas foram identificadas com anéis nas canelas, colocadas em engradados e transportadas para o abate, após jejum de 8 horas. Após o jejum, essas aves foram pesadas novamente, para se obter o peso de abate, o qual serviu de referência para o cálculo de todos os rendimentos. As aves foram pesadas após sofrerem: insensibilização, sangria, escaldagem, retirada das penas, evisceração, chiller e gotejamento. Em seguida, foram promovidos os cortes comerciais e pesagem destes cortes. Os cortes obtidos foram: peito, pernas, asas, dorso.

4.6 ABATE E OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

As 12 aves de cada tratamento, que foram pesadas e selecionadas para representar o peso médio de cada tratamento foram abatidas aos 42 dias na fazenda escola da Universidade Estadual de Londrina , seguindo os procedimentos padrões da empresa, como restrição alimentar de 6 a 8h, apanha e acondicionamento em caixas, transporte em caminhão apropriado.

O abate seguiu a linha de processamento comercial com as seguintes etapas consecutivas: pendura, insensibilização por eletronarcose, escalda, depenagem e evisceração. Após a evisceração, os frangos foram coletados e encaminhados ao *chiller* para resfriamento da carcaça até 4°C, na seqüência procedeu-se a desossa e retirada do músculo *Pectoralis major*, matéria prima de estudo. Todas as amostras foram acondicionadas em bandeja de polipropileno revestida com plástico de polietileno, identificadas e armazenadas sob refrigeração a 2°C por 24h para posterior análise.

4.7 VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE DA CARÇAÇA

4.7.1 Medida de pH

As análises de pH foram realizadas em duplicata no músculo *Pectoralis major* 24h *post mortem* utilizando o potenciômetro de contato (Modelo 205, Marca Testo), conforme descrições de Soares et al. (2002) e Oda et al. (2003). O ponto de incisão do eletrodo foi na parte cranial ventral do filé conforme Boulianne e King (1995) e adaptado por Olivo et al. (2001).



Figura 4 – Aferição de pH de amostras de filé de peito de frango (*Pectoralis major*).

4.7.2 Medida de Cor

As mesmas amostras utilizadas na determinação do pH foram analisadas para determinação da cor. O aparelho de medida de cor foi um colorímetro (Marca Minolta®, Modelo CR400), iluminante D65. As medidas de cor foram realizadas em três diferentes pontos na face ventral do músculo *Pectoralis major* 24h *post mortem*.

Os valores de L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) foram expressos conforme o sistema de cor CIELAB. (SOARES et al., 2002; ODA et al., 2003).



Figura 5 – Aferição dos parâmetros de cor de filés de peito de frango (Pectoralis Major).

4.7.3 Classificação dos filés de peito de frango

O valor de L^* foi utilizado como parâmetro para classificação dos filés conforme descrito por Soares et al. (2002). Assim, os filés com valores de $L^* \geq 53$ e $pH < 5,9$ foram classificados como PSE, com valores de $L^* \leq 44$ como análogo ao DFD e com valores intermediários de $44 < L^* < 53$ como Normal.

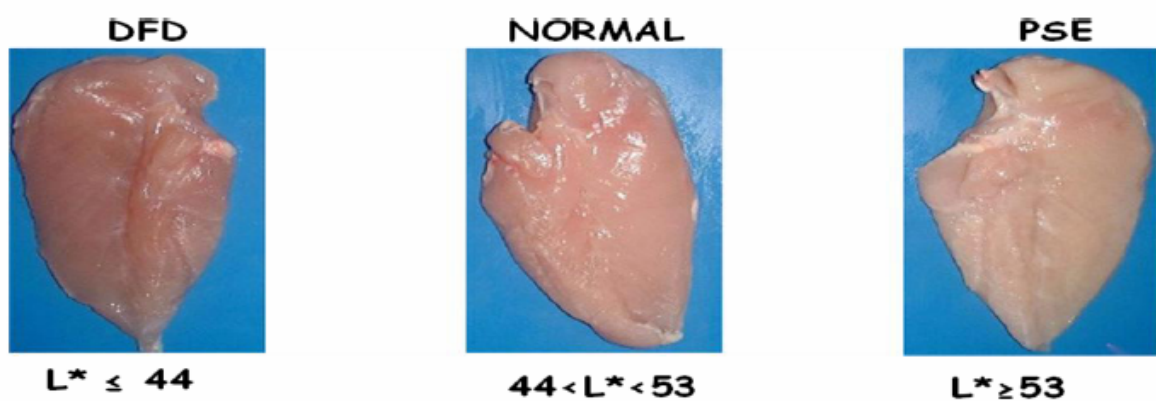


Figura 6 – Classificação dos filés de peito de frango em, DFD, Normal e PSE.
Fonte: Soares et al. (2002).

4.7.4 Capacidade de retenção de água (CRA)

Para a determinação da CRA foi utilizada a metodologia descrita por HAMM, (1960) que mede a perda de água liberada quando é aplicada uma pressão sobre o tecido muscular. Esta consistiu em colocar 2,00g de carne entre dois papéis de filtro circulares e este entre duas placas de vidro, no qual é colocado um peso de 10 kg por 5 minutos, posteriormente a amostra é pesada novamente. A CRA foi calculada pela diferença de peso da amostra e expressa em porcentagem de água exsudada em relação ao peso da amostra inicial, conforme fórmula abaixo:

$$\text{CRA} = 100\% - [(\text{peso inicial} - \text{peso final}) / \text{peso inicial}]$$

4.7.5 Perda por Cozimento

Os filés de peito foram pesados, ainda íntegros, antes e após a cocção, com a finalidade de se conhecer a perda de peso durante o cozimento (*cooking loss*) (OWENS et al., 2000). Os resultados, expressos em porcentagem, se basearam na diferença entre as pesagens.

Primeiramente, os filés foram cozidos (grelhados) em chapa elétrica, previamente aquecida a 180 °C, até atingirem a temperatura interna de 72 °C (± 2 °C), cerca de 10 minutos depois (5 minutos/ lado). A seguir, foram resfriados a 40 °C (± 2 °C) para serem novamente pesados em balança semi-analítica. A temperatura foi monitorada com auxílio de um termômetro digital.

4.7.6 Textura

As amostras cozidas de filés de peito de frango foram, cortadas em pedaços de 1x1x2 cm³ (altura, largura, comprimento), o comprimento seguiu o sentido das fibras da carne. Estas foram submetidas ao teste de cisalhamento com

lâmina Warner Bratzler, na velocidade de 5mm/seg, acoplada ao Texturômetro TA-XT2i, sendo os resultados expressos em Newton da força máxima necessária para o corte das amostras (KRIESE et al., 2007).

4.7.7 Análise de Oxidação Lipídica

Amostras dos cortes obtidos dos frangos de cada tratamento foram submetidos à análise de oxidação lipídica aos 90 dias após abate e foram mantidos em congelamento.

A análise de oxidação lipídica foi realizada seguindo a metodologia proposta por Pikul et al. (1989), onde amostras em triplicata pesando em torno de 10 g foram homogeneizadas com 50 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5%. O sobrenadante foi filtrado e alíquotas de 4 mL foram tratadas com 5 mL de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA), colocadas em banho fervente, esfriadas e medidas em espectrofotômetro a 538 nm. Os resultados foram expressos em mg de substâncias reactivas ao TBA (TBARS) por 1000 g de amostra. Os pontos para obtenção da reta padrão foram: 0,045 e 0,094.

4.7.8 Análise Estatística

Os resultados de todas as análises foram analisadas utilizando-se o programa *STATISTICA for Windows 6.0* (OKLAHOMA, 2001), a fim de verificar os efeitos de cada tratamento sobre as variáveis estudadas. O teste de média Tukey a 5% de probabilidade foi utilizado para comparação das diferenças significativas entre os tratamentos com relação aos resultados de ganho de peso diário, conversão alimentar, rendimento de carcaça e do filé de peito, capacidade de retenção de água, perda por cozimento, textura (carne cozida) e oxidação lipídica.

4.8 MONITORAMENTO DAS SALMONELOSES

4.8.1 Cepas Bacterianas

Salmonella enterica svs Enteritidis (ATCC 13076) e Typhimurium (ATCC 14028) foram utilizadas como referência durante os ensaios de PCR multiplex (m-PCR). Foram também utilizados isolados obtidos pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina-Brasil, sendo eles: um isolado de *Salmonella enterica* sv Infantis, outro de *Salmonella enterica* sv Newport e dois isolados de *Salmonella enterica* sv Enteritidis.

4.8.2 Procedimento experimental

Pintos de um dia foram obtidos a partir de um incubatório de frangos comerciais. O experimento consistiu de cinco grupos divididos em 6 repetições, alimentados com e sem aditivos (Tabela 2), cada repetição continha cinquenta aves. Suabes de *pool* de fezes foram coletados já no primeiro dia de nascimento (antes de os pintainhos receberem ração), e também no décimo e vigésimo dias, totalizando 6 coletas por tratamento por dia de coleta.

Tabela 2 – Suabes coletados através de mistura de fezes de diferentes tratamentos para detecção de *Salmonella* spp e da sorovar Enteritidis pelo método de m-PCR.

Tratamento	Repetições	Número de aves/box	Amostras coletadas por tratamento
Prebiotico	6	50	6 mistura de fezes
Probiotico	6	50	6 mistura de fezes
Simbiotico	6	50	6 mistura de fezes
Avilamicina	6	50	6 mistura de fezes
Controle	6	50	6 mistura de fezes

4.8.3 Extração de DNA

Cepas bacterianas referência (item 4.8.1) e culturas obtidas a partir de suabes de frangos incubados por horas em água peptonada foram submetidas à centrifugação a 10.000 x g por 2 minutos. Em seguida o sobrenadante foi descartado e o pellet bacteriano foi ressuscitado em 1 mL de 0,9% (m / v) de solução salina (Merck). As amostras foram novamente centrifugadas (14.000 × g por 5 min), o sobrenadante foi descartado cuidadosamente e o pellet celular foi ressuscitado em 0,5 mL de Triton 0,1% (Nuclear). As amostras foram fervidas por 10 min a 100° C, para liberação do DNA e colocados imediatamente em gelo. O tubo foi centrifugado por 5 min a 8000 ×g e o sobrenadante foi transferido cuidadosamente para um novo tubo de microcentrífuga. Alíquotas de 4 µL de cada amostra foram utilizadas como DNA molde na m-PCR.

4.8.4 Experimentos de PCR

Para realização dos experimentos de m-PCR, foram testados dois pares de *primers*, sendo que um deles é específico para detecção do gênero *Salmonella* (*primer inv-A*, descrito por Fratamico, 2003) e amplifica um fragmento de 796 pares de base (pb). O segundo par de *primers* utilizado na m-PCR é específico para detecção de *Salmonella* Enteritidis e amplifica um fragmento de 316 pb (*primer ie-1*, descrito por Wang e Yeh, 2002). Amplificações foram realizadas em um volume total de 20 µL, contendo: 1 unidade Taq DNA Polimerase (Invitrogen), tampão da Taq 1X (5 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 8,5); 1,5 mM de MgCl₂, 100 µM de dNTPs (Promega), 0,9 µM dos *primers inv-A* e 0,4 µM dos *primers ie-1* (Invitrogen). As amplificações foram realizadas no termociclador PT-200 (MJ Research, Inc.) e foram compostas pelas seguintes etapas: uma desnaturação inicial a 95° C por 5 min seguida de 30 ciclos de desnaturações a 95° C por 1 min, anelamento dos *primers* a 65° C por 30 segundos e polimerização pela enzima *Taq* a 72° C por 1 minuto, e para finalizar foi realizada uma etapa de extensão final a 72° C por 7 min.

4.8.5 Análise de Gel de Agarose

Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,5% (m/v) (Fermentas) corados com *Syber safe* (Invitrogen) e fotografados sob luz ultravioleta. Como controle positivo foram utilizadas reações de m-PCR com cepas referência de *Salmonella enteritidis* svs Enteritidis e Typhimurium, sendo esperada duas bandas para *Salmonella* Enteritidis (de 796 pb e de 316 pb) e uma única banda de 796 pb para *Salmonella* spp, conforme apresentado na figura 7. No controle negativo, o DNA foi substituído por 4 μL de água destilada e esterilizada.



Figura 7 – *Salmonella* Enteritidis apresentando duas bandas (796pb e 316pb) e *Salmonella* spp (Typhimurium) com apenas uma banda (796pb).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ÍNDICE ZOOTÉCNICO

A Tabela 3 mostra a media de ganho de peso dos frangos 1 - 21d e 1 - 42d de idade quando os mesmos foram abatidos. Para o grupo controle com 21 e 42 d a media de peso foi de 781,61 g e 2,561 kg, respectivamente, não havendo diferenças ($p>0,05$) entre os tratamentos. Ao mesmo tempo foram avaliadas a CA e CR, mensurados nas mesmas datas de 1-21 e 1-42 dias de idade não havendo diferenças ($p>0,05$) entre os tratamentos. O monitoramento mostrou que não diferiram significativamente entre os tratamentos obtendo para o grupo controle os valores de CA de 1,56 e 1,79, respectivamente para 21 e 42 d de experimento. Já para CR, os valores obtidos para o grupo controle foram 1,164 e 4,549 kg/ave para 21 e 42 d de idade, respectivamente. Esses resultados indicam que os substitutos dos promotores de crescimento podem ser utilizados como meio alternativo frente ao uso de quimioterápico, por se tratar de produtos orgânicos. Estes, quando utilizados na ração animal, têm como principal característica a ausência de resíduos que possam ser nocivos à saúde humana quando consumida.

Tabela 3 – Valores de Peso Médio (PM) Consumo de Ração (CR), Conversão Alimentar (CA) aos 21 e 42 dias e Ganho de Peso Diário (GPD) e Índice de Eficiência Produtiva (IEP) aos 42 dias.

Tratamentos	Peso aos 21 dias (g)	C.R.* 21 dias em kg/ave	C.A.* 21 dias	Peso aos 42 dias (kg)	C.R.* 42 dias (kg) /ave	C.A.* 42 dias	GPD*	Viabilidade %	IEP
Controle	781,61± 24,92	1,164±0,06	1,56 ± 0,03	2,561± 120,68	4,549±0,14	1,79± 0,07	60,97 ± 2,87	94 ± 4,63	322,63± 35,17
Avilamicina	804,80± 36,09	1,170±0,05	1,52 ± 0,05	2,673 ± 42,51	4,686±0,16	1,75± 0,03	63,65 ± 1,01	95 ± 2,76	344,68± 15,53
Prebiótico	782,92± 20,63	1,156±0,03	1,55 ± 0,03	2,616± 69,29	4,595±0,09	1,76± 0,02	62,28± 1,65	94± 4,63	331,21 ± 25,93
Probiótico	789,45± 42,84	1,189±0,04	1,57 ± 0,06	2,612± 132,92	4,643±0,15	1,78± 0,04	62,19 ± 3,16	97 ± 3,01	336,73± 30,13
Simbiótico	781,80± 21,22	1,190±0,03	1,59± 0,03	2,642 ± 60,20	4,722±0,17	1,77± 0,02	62,89 ± 1,43	95 ± 3,72	337,03± 14,69
Valor de p	0,645440	0,528305	0,171251	0,329771	0,264711	0,533334	0,329771	0,779244	0,655887

± desvio padrão.

As médias dos tratamentos não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5,0% de probabilidade ($p \geq 0,05$).

Os resultados obtidos corroboram com diversos autores como: Henrique et al. (1998); Corrêa et al. (2003); Santos et al. (2004); Faria et al. (2009); que utilizando promotores de crescimento, antimicrobianos e probióticos na ração de frangos de corte não verificaram diferenças significativas entre os resultados de peso vivo, ganho de peso e consumo de ração. Por outro lado, o fato de que até 21d não houve diferença significativa entre os tratamentos, indica que os pintainhos de 1d ao se acomodarem na gaiola, encontravam-se livres de contaminação de bactérias patogênicas e levando em conta a teoria de exclusão competitiva, pelo menos o controle eventualmente deveria se apresentar com o seu índice zootécnico prejudicado. De fato, foi mensurado microbiologicamente que pelo menos em relação à Salmonelose os recém nascidos encontravam-se isentos da contaminação e somente após 10d de idade, estas bactérias foram detectadas (Tab 7).

Nos últimos anos têm sido relatados resultados controversos. Loddi et al. (2000) não encontraram nenhum benefício ao adicionar probiótico na ração. Já Lesson et al. (1980); Krinker e Jamorz (1996); Cavazzoni et al. (1993), Cavalcanti et al. (1996), Gonzales et al. (1998), utilizando esses aditivos orgânicos, observaram melhora no ganho de peso e conversão alimentar em aves que receberam antibióticos. Jensen e Jensen (1992), Bertechini e Hossain (1993), Macari e Maiorka, (2000); Macari e Furlan, (2005); Neto et al., (2007), Lima et al., (2008) observaram melhoras significativas no desempenho zootécnico das aves suplementadas com os aditivos orgânicos.

Ainda na Tabela 3, observa-se que a diferença VI e IEP entre os tratamentos não foram significativos obtendo os valores semelhantes ao controle, $94,0 \pm 4,63$ e de $331,217 \pm 25,93$, respectivamente corroborando com os resultados de Santos et al. (2004).

Tabela 4 – Rendimento de carcaça e cortes de aves que receberam diferentes aditivos e abatidas aos 42 dias de idade.

Tratamentos	Rend.	Asas (%)	Pernas (%)	Peito (%)	Dorso (%)
Carcaça (%)					
Controle	72,89±4,75	11,76±0,48	31,32±1,26	38,12±1,50	18,80±0,70
Avilamicina	71,47±3,48	11,24±0,51	31,50±1,43	38,08±1,56	19,18±0,87
Prebiótico	73,60±6,49	11,40±0,49	31,66±1,30	37,42±1,09	19,09±0,59
Probiótico	70,84±2,75	11,50±0,60	31,58±1,56	38,06±2,12	18,86±0,73
Simbiótico	72,27±5,40	11,29±0,60	31,46±1,39	38,32±1,78	18,92±0,90
Valor de p	0,589898	0,110089	0,822804	0,736632	0,817013

As médias dos tratamentos não diferiram significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5,0% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

Não houve diferença significativa no rendimento de carcaça de 72,89 ± 4,75% e os cortes para asas (11,76 ± 0,48%), pernas (31,32±1,26%), peito (38,12±1,50%) e dorso (18,80±0,70%), para o grupo controle conforme pode ser observado na Tabela 4. Estes resultados confirmam os resultados encontrados por outros autores Henrique et al. 1998; Moreira et al. 2001; Maiorka et al. 2001; Vargas Jr. et al., 2002; Correa et al. 2003; Pelicano et al. 2003; Santos et al. 2004; Pelicano et al. 2005, Caromari Júnior et al, 2008; Faria et al. 2009. Contudo, Loddi et al. 2004, quando associaram a utilização de probióticos com antibióticos, observaram maior rendimento de carcaça. Pelicano et al 2002, utilizando probióticos na ração das aves, observaram efeito significativo aos rendimentos de pernas. A hipótese provável para não haver diferença significativa entre os tratamentos se dá ao fato das formulações nutricionais serem as mesmas para todos os tratamentos, cumprindo com as suas exigências, e o fato de não promover aos tratamentos desafios sanitários, não apresentou nenhuma diferenciação entre os resultados.

5.2 QUALIDADE DE CARNE DE FRANGOS ALIMENTADOS COM DIFERENTES ADITIVOS

A Tabela 5 apresenta os valores de pH, L*, a*, b* do peito 24h após o abate de frangos alimentados com diferentes rações. Os resultados indicaram que esses valores não mostraram diferenças significativas. Entretanto, ao avaliar individualmente cada tratamento para a incidência de anomalias de cor como o PSE os resultados mostraram-se interessantes enquanto que em todos os tratamentos não se observou a incidência de carnes DFD. A Fig. 8 mostra que as amostras originadas de aves alimentadas com ração basal apresentam uma incidência de 83,0% de carnes PSE e 17,0% de carnes consideradas normais.

Tabela 5 – Valores de pH 24 horas, L*, a*, e b* de filés de peito de frango (*Pectoralis major* m.), submetidos a diferentes tratamentos com promotores e substitutos de promotores de crescimento.

Tratamentos	Coloração			
	pH 24 horas	L*	a*	b*
Controle	5,80±0,14	56,17±3,27	2,98±1,17	7,10±1,92
Avilamicina	6,04±0,59	52,27±2,51	4,20±2,11	7,19±1,72
Prebiótico	5,92±0,19	52,17±4,48	3,35±2,05	6,61±2,81
Probiótico	5,87±0,07	53,32±2,82	3,66±1,99	7,23±2,33
Simbiótico	5,86±0,09	54,49±2,32	3,72±1,87	8,53±2,98
Valor de p	0,359	0,071	0,684	0,365

As médias dos tratamentos não diferiram significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5,0% de probabilidade ($p \leq 0,05$). \pm desvio padrão.

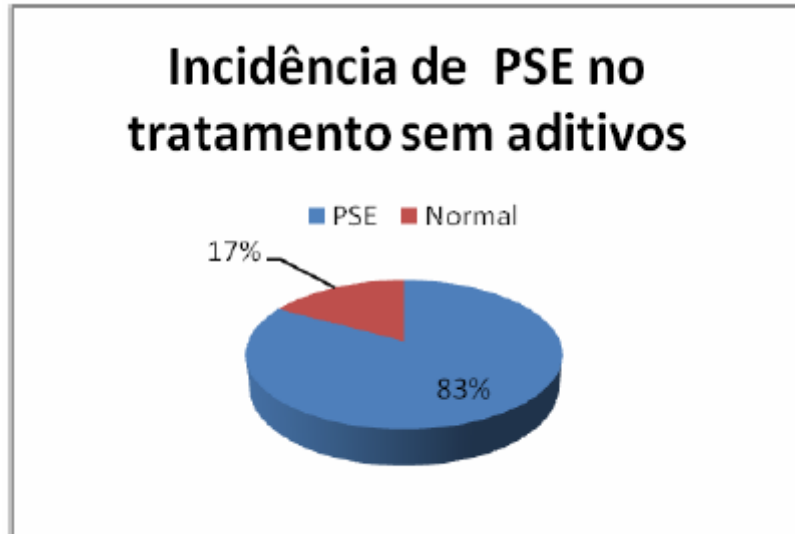


Figura 8 – Incidência de 83,0% de carnes PSE e 17,0% de normais de peito de frangos considerados controle alimentados com dieta base sem a adição de nenhum ingrediente.

Observa-se na Fig. 9 obtida das amostras de peito dos frangos alimentados com avilamicina que a incidência de PSE foi de 67,0% de PSE e 33,0% de carnes normais.



Figura 9 – Incidência de 67,0% de PSE e 33,0% carnes normais de peito de frangos alimentados com dieta contendo Avilamicina.

A Fig. 10 mostra a incidência de 67,0% de PSE e 33,0% de carnes normais originadas de frangos alimentadas com dietas contendo prebiótico.

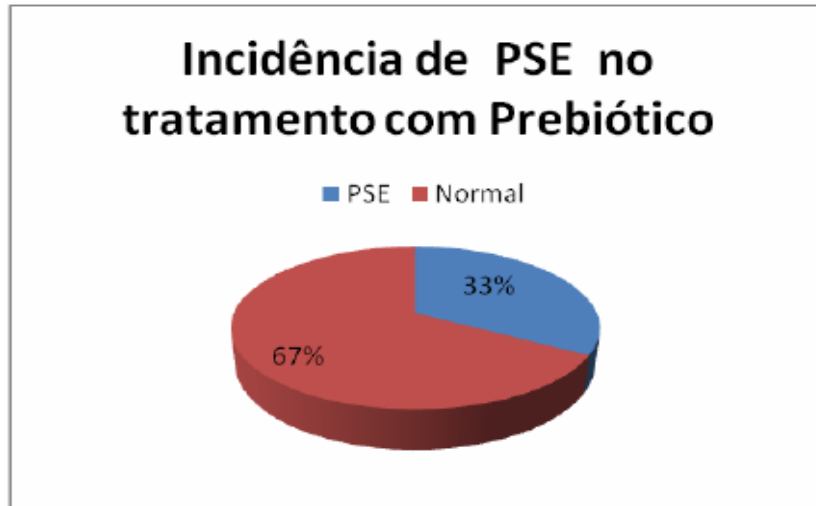


Figura 10 – Incidência de 67,0% de PSE e 33,0% de carnes de peito de frangos alimentados com dieta contendo prebiótico.

Observa-se na Fig. 11 obtida das amostras de peito dos frangos alimentados com simbiótico que a incidência de PSE foi de 50,0% de PSE e 50,0% de carnes normais.



Figura 11 – Incidência de 50,0% de PSE e 50,0% de carnes normais de peito de frangos alimentados com dieta contendo simbiótico.

Finalmente, para os frangos alimentados com probiótico, a Fig. 12 mostra que a incidência de PSE foi de 25,0% e 75,0% de carnes de peito normais.

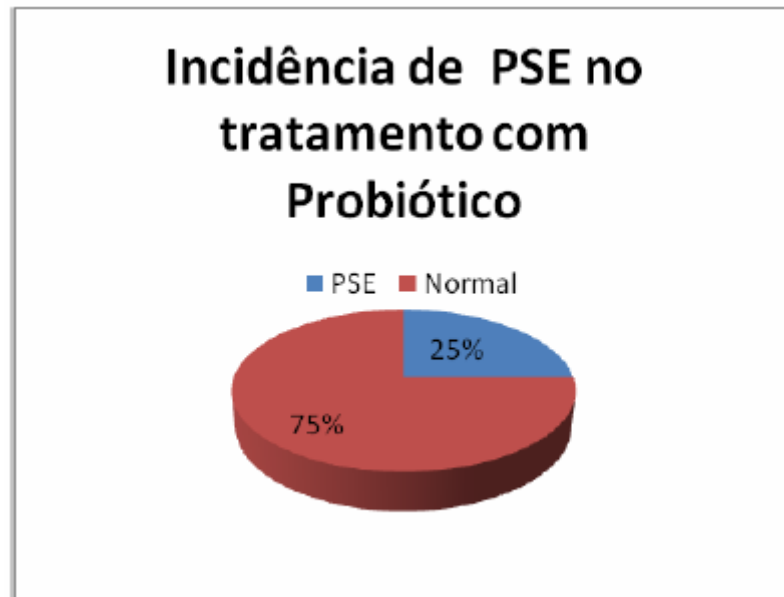


Figura 12 – Incidência de 75,0% de PSE e 25,0% de carnes normais de peito de frangos alimentados com dieta contendo probiótico.

5.3 BIÓTICOS E MANEJO E PSE

Há, portanto, uma seqüência quantitativa de maior para menor na manifestação de carnes PSE em relação à dieta controle>simbiótico>avilamicina=prebiotico>probiotico. Os resultados relatados nesse trabalho são pioneiros ao sugerir que os bióticos inibem a formação das carnes PSE em aves. Cabe salientar que a ocorrência de carnes PSE depende de 2 pelo menos fatores: manejo e genética. Dentro das condições do manejo, o estresse térmico a que são submetidas essas aves, é a causa primária para o seu desenvolvimento podendo levar a morte aos animais principalmente ao denominado Morte na Chegada do inglês Dead on Arrival (DOA). Foi demonstrado pelo Grupo de carnes da UEL (SIMÕES et. al., 2009) que o estresse térmico pode ser minimizado por uma adequada distribuição do ar entre as caixas de frangos no caminhão, tanto em movimento, quanto em repouso. A ventilação natural é importante para evitar o estresse por calor que prejudica o bem estar das aves e compromete a qualidade

final da carne, entretanto pode apresentar variações nas diferentes épocas do ano e não atingir uniformemente os frangos transportados no caminhão. Além do efeito da temperatura no microambiente do caminhão sobre a formação de carnes PSE, foi verificada neste experimento, a importância da aplicação do banho após o carregamento das aves. Evidenciou-se que o lote que recebeu banho apresentou menores valores de temperatura no microambiente do caminhão em comparação ao lote que não recebeu o banho. Conseqüentemente, a ausência do banho após o carregamento é um fator de risco significativo para a ocorrência de PSE, assim como a região do fundo do caminhão. As aves localizadas no fundo do caminhão e que não sofreram o banho antes do transporte foram as que mais produziram carnes PSE (SIMÕES et al., 2009). Nesse experimento, observou-se que o DOA não ultrapassou o valor de 0,2% do total das aves transportadas. Oba et al (2009) em um experimento nas condições não comerciais, observou que quando os frangos foram transportados por distâncias de 30km e não submetidos ao descanso, a incidência de carnes PSE e DOA foi maior do que quando permanecem por 180min em descanso pré abate. Portanto o descanso foi benéfico para evitar formação de PSE e de mortalidade durante o transporte. Porém quando foram transportados por 180min sem descanso, a ocorrência de PSE foi maior e a mortalidade foi menor do que quando permanecem por 90min em descanso. Neste caso, o descanso foi benéfico para evitar a formação de PSE, porém aumentou a mortalidade. Aproximadamente a metade da população dessas aves teve a morte súbita em condições de transporte por um longo descanso e sem o banho. Evidenciando o efeito benéfico do banho, uma exclusividade brasileira, na redução da mortalidade de frangos no verão, Silva et al. (2009), verificaram que o DOA para frangos com banho transportados pelas distâncias de 15 e 55 km com 60min de descanso foi de 0,12 e 0,15%, respectivamente, enquanto que as aves sem banho apresentaram o DOA de 0,16 e 0,27%, respectivamente, nas mesmas distancias. Todos esses argumentos discutidos indicam a possibilidade desses ingredientes orgânicos influenciarem na manifestação da morte súbita desde que há a relação entre a manifestação de PSE e DOA. Embora não tenha sido objeto desse experimento, há relatos indicando que esses ingredientes têm a capacidade de controlar o medo das aves durante o transporte conforme Ghareeb e Böhm (2009) que diagnosticaram o valor de 17,0% menos dos frangos alimentados com simbióticos não mostraram medo em comparação ao grupo controle avaliação realizada 24h após o transporte.

Urge conseqüentemente realizar um experimento para avaliar o efeito desses bióticos no DOA durante o transporte dos frangos que provoca uma perda de R\$ 1,5 mi ao ano em um frigorífico situado no sul do país que abate aproximadamente 300 mil aves/dia (SIMÕES et al., 2010).

5.4 BIÓTICOS E PSE E OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Enquanto os resultados em genética que estão sendo relatados pelo grupo de carnes da UEL não são conclusivos em relação principalmente à mutação da rianodina aviária (ZIOBER et al., 2009, 2010; ODA et al., 2009) e afora os cuidados pré abate envolvendo o transporte e o descanso já discutidos, foi demonstrado que a dieta com vitamina E previne o desenvolvimento do PSE. Nestas carnes, foi observada que o *modus operandi* do papel antioxidante está na estabilização dos fosfolípidos das membranas celulares inibindo a atividade da fosfolipase A2 (OLIVO et al., 2001; SOARES et al., 2009). A Tabela 6 indica outra evidência de que os bióticos atuam inibindo a formação das carnes PSE. Há uma notória diferença em relação ao nível da oxidação lipídica das aves alimentadas com os bióticos em relação à dieta controle embora ao mesmo tempo aquela contendo avilamicina mostre-se inibidora da oxidação. Foi originalmente observado que dietas contendo vitamina E inibe a formação das carnes PSE (OLIVO et al., 2001). Em seguida, foi observada que essas carnes anormais apresentam uma relativa maior atividade da fosfolipase A2 devido ao excesso de íons Ca intramuscular (SOARES et al., 2003). Hipotetizou-se que a enzima atuaria nos substratos constituídos pelos fosfolípidos ao nível das membranas mitocondriais e a presença da vitamina E inibiria essa atividade. Mais recentemente, Soares et al. (2009) observaram a influência da oxidação lipídica no surgimento das anormalidades das cores do filé do peito de frango. A oxidação lipídica foi 27.0% maior em carnes PSE em relação ao normal e 41.0% em relação ao análogo DFD. O perfil dos ácidos graxos foi também significativamente diferente desde que a fração do ácido araquidônico aumentou 38,6% e 70,5% em carnes PSE em comparação às carnes normais e análogas ao DFD, respectivamente. A razão PUFA/SFA se alterou nos três tipos de carne, 0,736, 0,713 e 0,694 para carnes PSE, normal e análogo ao DFD, respectivamente,

refletindo a maior produção dos ácidos graxos poliinsaturados em amostras PSE conferindo em decorrência a possibilidade do surgimento da oxidação lipídica ser mais acentuada observada pela formação de oxidação lipídica detectada mostrada na Tab 6.

Já, em relação aos bióticos, artigos sobre o assunto são escassos. Recentemente, Aksu et al. (2005), avaliando o efeito da adição de *Saccharomyces cerevisiae* (SC) na dieta na qualidade das carnes de frangos observaram uma diminuição do índice de TBARS embora os mesmos pesquisadores avaliando a cor do peito de frango com o mesmo probiótico na dieta não encontram variações significantes (KARAOGLU, et al. 2004). De fato, Zhang et al. (2005) relatam que SC em dieta de frangos diminui significativamente o índice TBARS quando comparada com as amostras de file e coxa de frangos que ingeriram uma ração sem SC. Esses resultados semelhantemente aos obtidos com os bióticos conforme a Tabela 6 indicam que há possibilidade de que ocorram fatores antioxidantes nesses últimos produtos orgânicos ou uma eventual melhora absorptiva ao nível intestinal, o que necessita eventualmente ser avaliada. O retardamento da oxidação lipídica promovida por probióticos foi observado em produtos cárneos. Schossler (2009) relata que *Bifidobacterium lactis* adicionada na produção de pate de presunto armazenado por 30d apresentou-se com uma diminuição de TBARS em torno de 30,0% nas amostras tratadas com o probiótico.

Apesar desse fato, pode-se, entretanto, especular que os bióticos tenham o papel de inibir a oxidação lipídica e em decorrência há essa possibilidade de controlar a formação das carnes PSE desde que há uma notória diferença em relação ao nível da oxidação lipídica das aves alimentadas com os bióticos em relação à dieta controle e relacionada às anormalidades das cores do filé do peito de frango.

5.5 BIÓTICOS E PSE E TEXTURA

A Tabela 6 mostra resultados na tentativa de caracterizar as carnes PSE. De acordo com os resultados de Wilhem et al. (2010), esperava-se que os valores de CRA e a perda por cozimento fossem significativamente maiores no

tratamento controle ao qual apresentaram maior incidência de PSE uma vez que nessas condições as proteínas das carnes perdem a sua funcionalidade. Entretanto, a textura mostrou-se significativamente diferente ($p \leq 0,05$) com as amostras obtidas do grupo probiótico e estas foram as mais amaciadas enquanto que aquelas do grupo prebiótico e controle foram às amostras consideradas mais rígidas. Recentemente, foi observado que o estado da textura em peitos PSE de frangos varia dependendo das condições do manuseio da carcaça e está relacionada com a atividade das proteases endógenas. O sistema calpaina torna-se atuante e devido ao excesso dos íons cálcio em amostras de carnes PSE, estas enzimas principalmente as u-calpains têm a sua atividade comparativamente aumentada. Calculou-se que essas carnes anormais são 25.0% mais amaciadas quando comparadas com o controle devido à maior atividade do sistema calpaina (KRIESE et al., WILHEM et al., 2010). Não há relatos, entretanto, sobre a eventual relação entre os bióticos com o aumento da atividade das proteases em músculo o que seria um tema a ser investigado. Por outro lado, Zhang et al (2009) observaram que as carnes das aves que consumiram ração contendo SC mostraram-se mais tenras do que as amostras controle. Portanto, aliado ao fato que aqueles autores encontraram também menor oxidação lipídica nas carnes de frangos sob a dieta com SC, não pode ser descartada a possibilidade de que SC, como os bióticos aqui estudados, poderiam eventualmente controlar a formação de carnes PSE.

Tabela 6 – Capacidade de Retenção de Água (CRA) (%), Perda Por Cozimento (%), força de cisalhamento (N), Oxidação lipídica (mg de TBARS/kg de amostra) avaliadas em file de peito de frangos alimentadas sob diferentes tratamentos.

Tratamentos	CRA em %	Perda por cozimento em %	Textura	Oxidação lipídica.
Controle	69,98±2,58	25,80±4,76	28,95±6,41ab	0,029±0,015a
Avilamicina	73,59±1,31	24,33±2,52	21,56±3,58bc	0,014±0,007b
Prebiótico	72,97±3,51	24,62±2,09	30,55±1,29a	0,013±0,003b
Probiótico	71,38±2,69	24,27±2,57	20,20±3,50c	0,016±0,005ab
Simbiótico	68,65±3,18	25,27±2,56	23,44±2,65bc	0,014±0,004b
Valor de p	0,121083	0,784400	0,000023	0,0100238

As médias dos tratamentos não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5,0% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

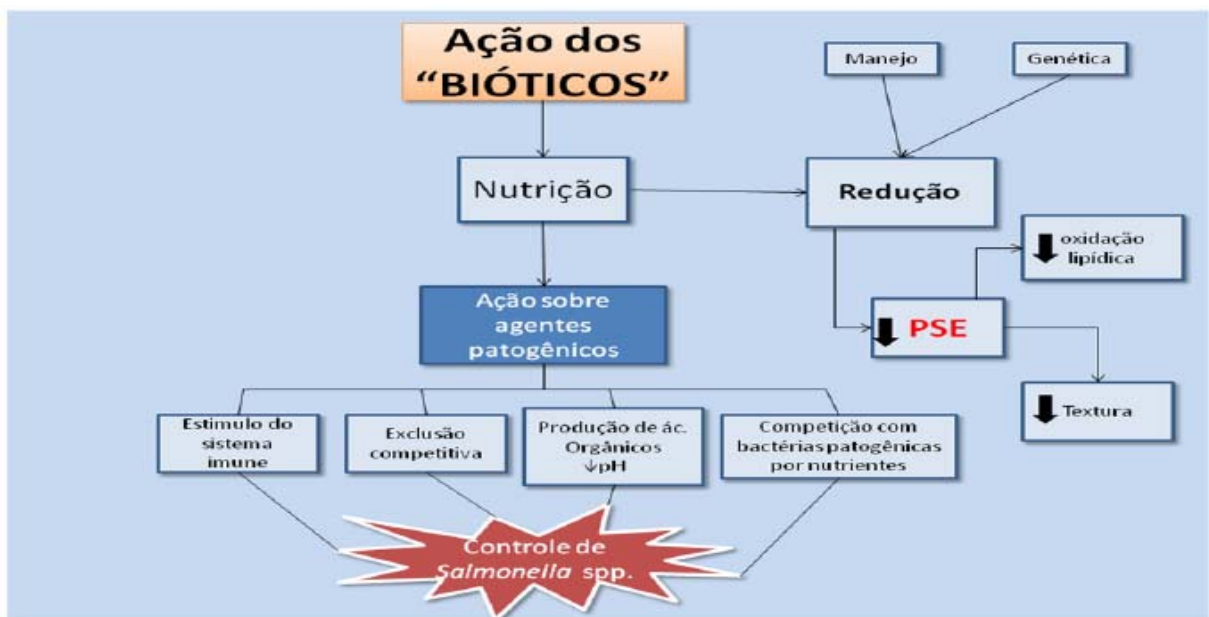


Figura 13 – Ação dos Bióticos sobre a qualidade da carne e sobre o controle de *Salmonella* spp.

Sumariamente, a Fig. 13 mostra o efeito dos bióticos benéficos principalmente dos probióticos no bem estar das aves inibindo a formação das carnes PSE através da observação da diminuição da oxidação lipídica e da textura ambos fenômenos observados pela liberação excessiva dos íons cálcio e na ação sobre as salmonelas.

6 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À SALMONELOSE

Em pintainhos há pouca diversidade da microflora intestinal e conseqüentemente este fato é um fator limitante para digestão facilitando dessa forma a contaminação por bactérias patogênicas. Nesse sentido, os antibióticos contidos nas rações tem um papel preponderante na manutenção da isenção dos patógenos entéricos. Em paralelo às avaliações realizadas com a adição dos bióticos em relação aos índices zootécnicos e a qualidade das carnes, o grupo de Carnes da UEL realizou um monitoramento do desenvolvimento das *Salmonella* spp durante todo o experimento. Para que o acompanhamento fosse possível houve a necessidade de desenvolver a técnica da polimerase ie. multiplex polymerase chain reaction (m-PCR) o que tornou factível a sua avaliação não somente ao nível gênico como também na identificação de *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis em amostras coletadas através de suabes (PAIÃO, et al., em preparação).

Os ensaios de m-PCR foram primeiramente ajustados em cepas referências e isolados de *Salmonella* obtidos a partir de alimentos (Fig 14). Os ensaios de m-PCR mostram a amplificação de apenas um fragmento para *Salmonella* Infantis, Newport e Thiphimurium, como o esperado. Esta amplificação ocorreu graças a presença dos *primers* inv-A, que amplificam um fragmento de 796 pb, presente em todas espécies e serovares do gênero *Salmonella*. Este *primer* foi desenhado a partir de uma seqüência específica do gene *inv* que codifica um fator de virulência específica deste gênero bacteriano. Já para *Salmonella* Enteritidis ATCC e isolados a mesma banda de 796 pb foi observada e também uma banda adicional de 316pb. Este fragmento é fruto da amplificação pelos primers iE-1, que codificam um gene específico da *Salmonella enterica* sv Enteritidis.

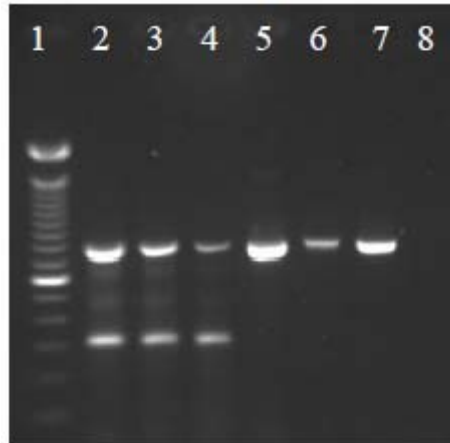


Figura 14 – Eletroforese em gel de Agarose para m-PCR de culturas de *Salmonella spp.* Linha 1: Marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen); Linhas 2: *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (ATCC 13076); Linhas 3 and 4: isolados de *Salmonella* Enteritidis. Linha 5: Isolado de *Salmonella enterica* sv Infantis; Linha 6: isolado de *Salmonella enterica* sv Newport; Linha 7: *Salmonella enterica* sv Thyphimurium (ATCC 14028); Linha 8: Controle negativo de amplificação. Em seguida à padronização da técnica, ensaios foram feitos para detecção de *Salmonella spp* e SE em frangos tratados com prebióticos, probióticos e simbióticos.

Salmonella spp e Enteritidis não foram detectadas em amostras coletadas de pintos de 1 dia (recém chegados do incubatório). Nas amostras coletadas em frangos com 10 e 20 dias de idade a presença de *Salmonella* foi detectada (Tabela 7 e Figura 15). Dessas, 21 amostras apresentaram *Salmonella spp*, sendo que 11 delas pertencem ao sorovar Enteritidis. No décimo dia, a contaminação com *Salmonella spp* e Enteritidis (n =12) foi maior que no vigésimo dia (n=9). Aves tratadas com probiótico e simbiótico apresentaram essa tendência em promover a redução na contaminação por *Salmonella*, provavelmente devido ao fato que pintainhos recém nascidos sejam mais susceptíveis à infecção por *Salmonella*, já que com o passar do tempo há um aumento na resistência ao patógeno devido à aquisição gradual da imunocidade e estabelecimento dos microrganismos que constituem a microbiota intestinal (SMITH; TUCKER, 1980). Já no tratamento com prebióticos isso não foi observado, sendo que aos 10 dias uma única amostra se mostrava infectada com *Salmonella* e que aos 20 dias três amostras apresentaram esta bactéria, indicando que este produto não beneficiou o desenvolvimento da microbiota, como ocorrido para tratamento com probiótico e simbiótico, conforme demonstrado pela tabela 7.

Tabela 7 – Incidência de Salmonellas nos diferentes tratamentos contendo aditivos.

Tratamento	Dia 1	Dia 10			Dia 20		
	<i>Salmonellas</i>	<i>Salmonella total</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Salmonella total</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
Controle	0%	66%	50%	16%	50%	33%	16%
Avilamicina	0%	50%	0%	50%	16%	0%	16%
Simbiótico	0%	33%	16%	16%	16%	0%	16%
Prebiótico	0%	16%	0%	16%	50%	16%	33%
Probiótico	0%	33%	33%	0%	16%	16%	0%

*O número de coletas por tratamento foram (n=6).

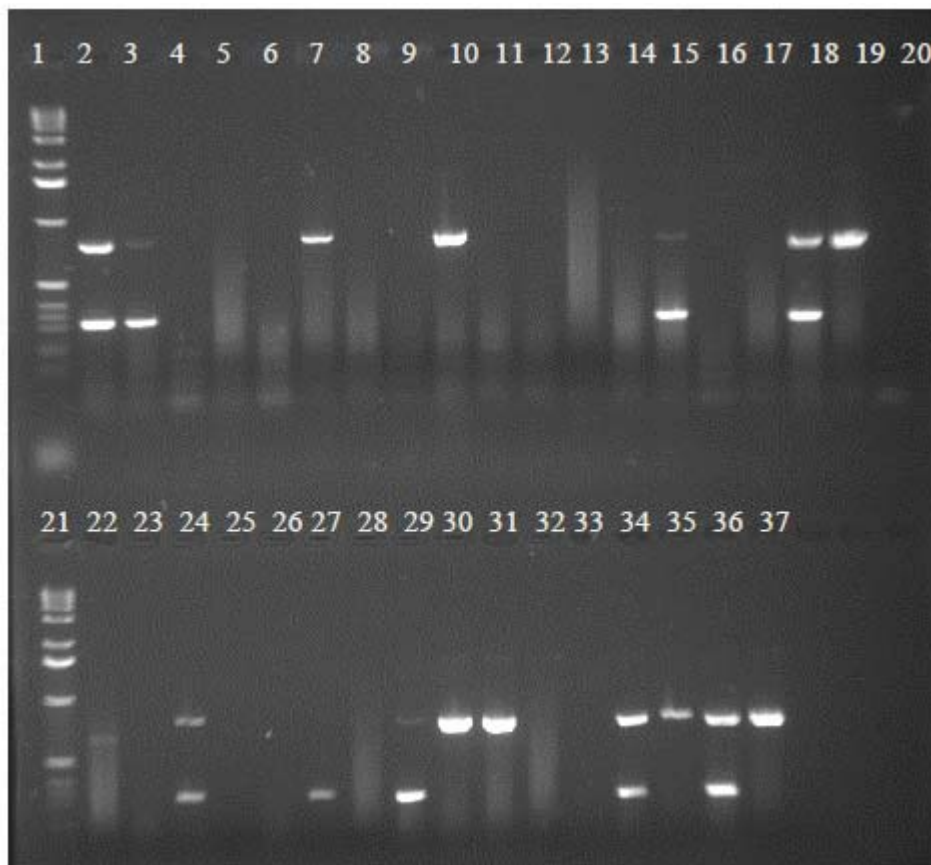


Figura 15 – Eletroforese em gel de agarose para amplificação por m-PCR amplification a partir de suabes coletados em frangos com 10 dias de idade. Linha 1 e 21: Marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen); Linhas 2 and 3: *Salmonella enterica* sv Enteritides; Linha 4: controle negativo(sem DNA). Linhas 5 a 10: amostras tratadas com probiótico; Linhas 11 a 16: amostras tratadas com prebiótico; Linhas 17 a 23 (exceto 21) amostras tratadas com simbióticos; Linhas de 24 a 29: amostras tratadas com avilamycina; Linhas 29 a 35: Controle (sem aditivos) Linha 36 *Salmonella enterica* sv Enteritides; Linha 37: *Salmonella enterica* sv Typhimurium.

7 CONCLUSÕES

Os frangos alimentados pelos bióticos não apresentaram diferenças significativas em relação aos índices zotécnicos indicando que tanto os probióticos, prebióticos e simbióticos podem substituir os promotores de crescimento sem alterar quantitativamente o ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, viabilidade e rendimento de carcaça e cortes.

Os bióticos inibiram parcialmente o desenvolvimento da formação das carnes PSE ao relacioná-las com os resultados da oxidação lipídica. Foi detectada maior ocorrência da oxidação no tratamento controle, sugerindo desta forma valores característicos das carnes PSE.

Finalmente, as aves alimentadas com ração contendo os bióticos mostraram-se efetivas ao controlar a contaminação por *Salmonella* spp e Enteritidis indicando que os frangos sob alimentação destas dietas obtiveram os mesmos resultados que o tratamento com avilamicina.

REFERÊNCIAS

ABEF – Associação Brasileira de Exportadores de Frango. Disponível em: www.abef.com.br. Acesso em: 15 set. 2009.

AKSU, M.I., KARAOGLU, M., ESENBUGA, N., KAYA, M., MACIT, M. OCKERMAN, H.W. Effect of a dietary probiotic on some quality characteristics of raw broiler drumsticks and breast meat. **Journal of Muscle Foods**, v.16, p. 306–317. (2005).

ALBINO L.F.T., FERES F.A., DIONIZIO M.A., ROSTAGNO H.S., VARGAS JR. J.G., CARVALHO D.C.O., GOMES P.C. & COSTA C.H.R. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **R. Bras. Zootec.** v.35, p. 742-749. 2006.

ALLEN, C. D.; FLETCHER, J. K.; NORTHCUTT, J. K.; RUSSEL, S. M. The relationship of broiler breast color to meat quality and shelf life. **Poultry Science**, v.77, p.361-366, 1998.

AMMERMAN, E.; QUARLES, C.; TWINING, P. V. Effect of dietary fructooligosaccharides on feed efficiency in floor-pen reared male broiler. **Poultry Science**, Champaign, v.67, n.1, 1(Abstr.), 1988.

AMMERMAN, E.; QUARLES, C.; TWINING, P. V. Evaluation of fructooligosaccharides on performance and carcass yield of male broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.68, n.1, 167 (Abstr), 1989.

ANADÓN, H. L. S. **Biological, nutritional, and processing factors affecting breast meat quality of broilers**. 171p. 2002. Tese (University of Virginia – Polytechnic Institute and State University), 2002.

ARAÚJO L.F., JUNQUEIRA O.M., ARAÚJO C.S.S., LAURENTIZ A.C., SAKOMURA N.K. & CASARTELLI E.M. 2000. Antibiótico e probiótico para frangos de corte no período de 24 a 41 dias de idade.

BARBUT, S. Estimates of the magnitude of the PSE problem in poultry - A review. **Journal Muscle Food**, v.9, n.1, p.35-49, 1998.

BARBUT, S. Occurrence of pale, soft, exudative meat in mature turkey hens. **Br. Poultry Science**, Edinburgh, v.38, n.1, p.74-77, 1997a.

BARBUT, S. Occurrence of pale soft exudative meat in mature turkey hens. **British Poultry Science**, v.38, p.74-77, 1997b.

BATE-SMITH, E.C; BENDALL, J.R. Factors determining the time course of rigor mortis. **The Journal of Physiology**, v.110, p.47-65, 1949.

BEE, G.; ANDERSON, A.L.; LONERGAN, S.M.; HUFF-LONERGAN, E. Rate and extent of pH decline affect proteolysis of cytoskeletal proteins and water-holding capacity in pork. **Meat Science**, v.76, p.359-365, 2007.

BENDALL, J. R.; SWATLAND, H. J. A review of the relationship of pH with physical aspects of pork quality. **Meat Science**, Oxford, v.24, p.85-126, 1988.

BENDALL, J. R.; WISMER-PEDERSEN, J. Some properties of the fibrillar proteins of normal and watery pork muscle. **Journal of Food Science**, Chicago, v.24, p.144-457, 1962.

BERRI, C.; WACRENIER, N.; MILLET, N.; LE BIHAN DUVAL, E. Effect of selection improved body composition on muscle meat characteristics of broilers from experimental and commercial lines. **Poultry Science**, v. 80, p. 833-838, 2001.

BERTECHINI, A.G.; HOSSAIN, S.M. Utilização de um tipo de probiótico como promotor de crescimento em rações de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO 1993 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Campinas. **Anais...** Campinas: Facta, 1993. p. 1.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Res. Int.**, Amsterdam, v.35, n.2/3, p.125-131, 2002.

BIHAM – DURVAL, E. LE; BERRI C.; BAEZA, E.; MILLET, N.; BEAUMONT, C. Estimation of the genetic parameters of meat characteristics and of their genetic correlations with growth and body composition in a experimental broiler line. **Poultry Science**, Champaign, v.80, n.7, p. 839-843, 2001.

BOLES, J.A.; PARRISH, F.C.; HUIATT, T.W.; ROBSON, R.M. Effect of Porcine Stress Syndrome on the solubility and degradation of myofibrillar/cytoskeletal proteins. **Journal of Animal Science**, v.70, p.454-464, 1992.

BOULIANNE, M.; KING, A. J. Biochemical and color characteristics of skinless boneless pale chicken breast. **Poultry Science**, v.74, p.1693-1698, 1995.

BRANDTZAEG, P. Development and basic mechanisms of human gut immunity. **Nutr Rev**, New York, v.56, n.1, supp. 2, p s5-s18, 1998.

BRESSAN, M. C. **Efeitos dos fatores pré-abate sobre a qualidade do peito de frango**. 1998. 179p. Tese (Universidade Estadual de Campinas), 1998.

BREWER, M. S.; McKEITH, F. K. Consumer-rated quality characteristics as related to purchase intent of fresh pork. **Journal of Food Science**, Chicago, v.64, n.1, p. 171-174, 1999.

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

BUKETT, R.F., THAYLER, R.H., MORRISON, R.D. **Supplementing market broiler diets with Lactobacillus and live yeast cultures**. Stillwater: Oklahoma State University; 1977.

- CANDEK-POTOKAR, M.; ZLENDER, B.; FEFAUCHER, L.; BONNEAU, M. Effects of age and/or weight at slaughter on longissimus dorsi muscle: biochemical traits and sensory quality in pigs. **Meat Science, Barking**, v.48, n.3/4, p.287-300, 1998.
- CARAMORI JÚNIOR, J. G. Efeito de simbiótico na ração inicial de frangos de corte sobre o desempenho, qualidade de carcaça e carne. **Acta Sci. Anim. Sci.** Maringá, v.30, n.1, p. 17-23,2008.
- CAVALCANTI, J.S. et al. Probióticos e farinha de carne e ossos com diversos níveis de contaminação bacteriana para frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBZ, 1996. p. 50-52.
- CAVAZZONI, V. et al. A preliminary experimentation on broilers with a strain of *Bacillus coagulans* as probiotic. **Microbiologie Aliments Nutrition**, Châtenay-Malabry, v.11, p. 457-462, 1993.
- CHEAH, K. S.; CHEAH, A. M. Skeletal muscle mitochondrial phospholipase A2 and the interaction of mitochondrial and sarcoplasmic reticulum in porcine malignant hyperthermia. **Biochimica Biophysica Acta**, Amesterdam, v.638, p.40-49, 1981.
- CHEAH, K. S.; CHEAH, A. M.; CROSLAND, A. R.; CASEY, J. C.; WEBB, A. J. Relationship between Ca²⁺ release, sarcoplasmic Ca²⁺, glycolysis end meat quality in halothane - sensitive and halothane – insensitive pigs. **Meat Science, Barking**, v.10, n.2, p. 117 – 130, 1984.
- CLOSE, W.H. Producing pigs without antibiotic growth promoters. **Advances in Pork Production**, v.11, p. 47-56, 2000.
- COLLETT, S. Nutrição, imunidade e produtividade. In: RONDA LATINO-AMERICANA – O FUTURO DA ALIMENTAÇÃO, 10., 2000, Brasil. **Anais...** Brasil : Alltech, p.20-30. 2000.
- CORÓ, F. A. G.; YOUSSEF, E. Y.; SHIMOKOMAKI, M. Age related changes in poultry breast meat collagen pyridinoline and texture. **Journal of Food Biochemistry**, v.26, n.6, p.533-541, 2002.
- CORRÊA, G. S. S. Utilização de antibiótico e probiótico como promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Revista Universidade Rural do Rio de Janeiro**, Série Ciência da Vida. v.22, n.2, p 75-81, 2003.
- CORRIER, D.E.; HINTON Jr., A.; ZIPRIN, R.L. et al. Effect of dietary lactose on cecal pH, bacteriostatic volatile fatty acids and *Salmonella typhimurium* colonization of broiler chicks. **Avian Dis.**, v.34, p.617-625, 1991.
- COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Council regulation on the authorization of the additive avilamycin in feedingstuffs. Disponível em: <<http://register.consilium.eu.int/pdf/en/03/st06/st06120en03.pdf>>. Acesso em: 08 jan. 2006.

SILVA D. S. P. Detecção Simultânea de Salmonella spp. E Salmonella Enteritidis em carcaças de frango por reação em cadeia de polimerase. Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos Dissertação de mestrado.2008.

DAYTON, W.R.; GOLL, D.E.; ZEECE, M.G.; ROBSON, R.M.; REVILLE, W. A Ca²⁺-activated protease possibly involved in myofibrillar protein turnover. Purification from porcine muscle. **Biochemistry**, v.15, p.2150-2158, 1976.

DAYTON, W.R. Comparison of low- and high-calcium-requiring forms of the calciumactivated protease with their autolytic breakdown products. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.709, p.166-172, 1982.

DEBUT, M., BERRI, C., BAEZA, E., SELLIER, N., ARNOULD, C., GUEMENE, D, JEHL, N., BOUTTEN, B., JEGO, Y., BEAUMONT, C., BIHAN-DUVAL, E.L. Variation of chicken technological meat quality in relation to genotype and preslaughter stress conditions. **Poultry Science**, v.82, p.1829-1838, 2003.

DEMATTE, L.C.F. **Aditivos em dietas de frangos de corte criados em sistema alternativo**. 2004. 86 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de São Paulo –UNESP, Botucatu.

DIONIZIO, M. A.; BETERCHINI, A. G.; KANJIKATO, R.; TEIXEIRA, A. S. Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte – desempenho e rendimento de carcaça. **Ciênc. Agrotec., Lavras**. Edição especial, p. 1580-1587, dez., 2002.

DIRINCK, P et al. Variation of chicken technological meat quality. 1. Effect of feeding high vitamin E levels on time – related pork quality. **Journal of agricultural Food and Chemistry**, Columbus, v. 44, p. 65-68, 1996.

DRANSFIELD, E.; SOSNICKI, A.A. Relationship between muscle growth and poultry meat quality. **Poultry Science**, v.78, p. 743-746, 1999.

FARIA, D. E. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: **Revista Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.1 p.29-39, 2009.

FARNWORTH, E.R. et al. Feeding Jerusalem artichoke flour rich in fructooligosaccharides to weanling pigs. **Can J Anim Sci**, Ottawa, v.72, n.12, p.977-980, 1992.

FEED ADDITIVE COMPENDIUM. **The Miller Publishing Company**. Minnetoka, 1998.

FERNANDEZ, X.; SANTÉ, V.; BAEZA, E.; LEBIHAN-DUVAL, E.; BERRI, C.; RÉMIGNON, H.; BABILÉ, R.; LE POTTIER, G.; ASTRUC, T. Effects of the rate of muscle post mortem pH fall on the technological quality of turkey meat. **British Poultry Science**, v.43, p.245-252, 2002.

FLETCHER, D.L. Broiler breast meat color variation, pH, and texture. **Poultry Science**, v.78, p. 1323-1327, 1999.

- FLETCHER, D.L.; QIAO, M.; SMITH, D.P. The relationship of raw broiler breast meat color and pH to cooked meat color and pH. **Poultry Science**, v.79, n.5, p.784-788, 2000.
- FRATAMICO, P.M. Comparison of culture, polymerase chain reaction (PCR), TaqMan Salmonella, and Transia Card Salmonella assays for detection of Salmonella spp. in naturally-contaminated ground chicken, ground turkey, and ground beef. **Mol Cell Prob**, 17:215-221. 2003.
- FRONING, G.W.; BABJI, A.; MATHER, F.B. The effect of preslaughter temperature, stress, struggle and anesthetization on color and textural characteristics of turkey muscle. **Poultry Science**, v.57, p.630-633, 1978.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, n.5, p.365-378, 1989.
- FURLAN, R. L.; MACARI, M.; COSTA, M. J. R. P. Bem-estar das aves e suas implicações sobre o desenvolvimento e produção. In: FORUM INTERNACIONAL DE AVICULCTURA, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Animal World, p.60-68, 2005.
- GAMBA J.P., GARCIA NETO M. & SILVA V.M.S. 2006. Avaliação de uma fonte simbiótica dietética para avestruzes em crescimento. Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas, Santos, SP. **Anais...**: Facta. Supl. v.8, p. 33.
- GEESINK, G.H.; OUALI, A.; SMULDERS, F. J. M.; TALMANT, A.; TASSY, C.; GUIGNOT, F.; UAN LAACK, H. L. J. M. The role of ultimate pH in proteolysis and calpain / calpastin activity in bovine muscle. **Biochimie**, v.74, p. 283-289, 1992.
- GEESINK, G. H.; ILIAN, M. A.; MORTON, J. D.; BICKERSTAFFE, R. Involvement of calpains postmortem tenderization. A review of recent research. **Proceedings of the New Zealand Society of animal Production**, v.60, p. 99-102, 2000.
- GIBSON G.R., ROBERFORID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota, introducing the connect of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.125, p.140-1412,1995.
- GIL-PARRADO, S.; POPP, O.; KNOCH, T.A.; ZAHLER, T.A.; BESTVATER, F.; FELGENTRAGER, M.; HOLLOSCHI, A.; FERNÁNDEZ-MONTALAVÁN, A.; AUERSWALD, E.; FRITZ, H.; FLUENTES-PRIOR, P.; MACHLEIDT, W.; SPIESS, E.. Subcellular localization and in vivo subunit interactions of ubiquitous μ -calpain. **Journal of Biological Chemistry**, v.278 (18), p.16336-16346, 2003.
- GOLL, D.E.; THOMPSON, V.F.; LI, H.; WEI, W.; CONG, J.. The Calpain System. **Physiol Rev**, v.83, p. 731-801, 2003.
- GONZALES, E. et al. Efeito da adição de probiótico e antibiótico como promotores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte. In: REUNIAO ANUAL DA SBZ, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998, p. 189-191.

GUARNIERI, P. D.; OLIVO, R.; SOARES, A.L.; IDA, E. J.; LARA, J. A. F.; SHIMOKOMAKI, M. Bem – estar animal e qualidade da carne das aves: uma exigência dos consumidores. **Revista Nacional da Carne**, ano. XXVI, n.301, p. 36-44, 2002.

GUARNIER, P.D.; SOARES, A.L.; OLIVIO, R.; SCHNEIDER, J.; MACEDO, R.; SCHNEIDER, J.; MACEDO, R.M.G.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Preshapeughter handling with shower spray inhibits PSE (Pale, soft, exminative) mbricler breast meatin a commercial plant. Biochemical observations ; **Journal of Food Biochemistry**, v.28, n.3, 2004.

HAMM, R. Biochemistry of meat hydratation. **Advances in Food Research Cleveland**, v.10, n.2, p.435-443, 1960.

HENRIQUE, A.P.F. et al. Uso de probióticos e antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 297-299.

HIDAKA, H.; EIDA, T.; TAKISAWA, T. **Effects of fructo-oligosaccharides on intestinal flora and human health**. Bifidobacteria Microflora, v.5, n.1, p. 37-50, 1986.

HIDAKA, H.; HIRAYAMA, M.; YAMADA, K. Fructooligosaccharides enzymatic preparation and biofunctions. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, New York, v. 10, p. 509-522, 1991.

HOLZAPFEL, W.H., SCHINLLINGER, V. Introduction to pre-and probiotics. **Food Res. Int.**, Amsterd, v.35, p. 109-116, 2002.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S.M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat Science**, v.71, p.194-204, 2005.

IJI, P.A.; TIVEY, D. R. Natural and synthetic oligosaccarides in broiler chicken diets. **World's Poultry Sci.**; 54: 129-143. 1988.

IMMERSEEL F.V., CAUWERTS K., DEVRIESE L.A., HAESBROUCK F. & DUCATELLE R. 2002. **Feed additives to control salmonella in poultry**. World Poul. Sci. J. 58:501-513.

JENSEN, J.F., JENSEN, M.M. The effect of using growth promoting Bacillus strains in poultry feed. In: WORLD'S POULTRY CONGRESS, 18, 1992, Amsterdam. **Proceedings...** Amsterdam: WPSA, 1992, 3, p.398-402.

JUNQUEIRA O.M. & DUARTE K.F. 2005. Resultados de pesquisa com aditivos alimentares no Brasil. XLII **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 25-28 jul., Goiânia, GO, p.169-182.

KARAOGLU, M., AKSU, M.I., ESENBUGA, N., KAYA, M., MACIT, M., DURDAG, H. Effect of dietary probiotic on the pH and colour characteristics of carcasses, breast fillets and drumsticks of broilers. **Animal Science** 78, p. 253-259, 2004.

- KOOHMARAIE, M. The role of endogenous proteases in meat tenderness. In proceedings of 41 st annual reciprocal meat conference, Wyoming, USA, p. 89-100, 1998.
- KOOHMARAIE, M. Ovine skeletal muscle multicatalytic proteinase complex (proteasome): purification, characterization, and comparison of its effect on myofibrils with μ -calpain. **Journal of animal science**, v.70, p. 3697-3708, 1992a.
- KOOHMARAIE, M. Effect of pH, temperature, and inhibitors on autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle μ O-calpain. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 3071-3080, 1992b.
- KRIESE, P.R., SOARES, A.L., GUARNIERI, P.D., PRUDENCIO, S.H., IDA, E.I. & SHIMOKOMAKI, M., Biochemical and Sensorial Evaluation of Intact and Boned Broiler Breast Meat Tenderness during Ageing. **Food Chem.**, Exeter, v. 104, p. 1618-1621, 2007
- KRINKE, A.L., JAMROZ, D. 1996. Effects of feed antibiotic avoparcine on organ morphology in broiler chickens. **Poult. Sci.**, 75:705-710.
- KUBOTA, E.H.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Maturação da carne. Um processo enzimático. **Revista nacional da carne**, v.18, n.200, p.12-14, 1993.
- KULLEN, M.J. et al. Carbohydrate source and bifidobacteria influence the growth of *Clostridium perfringens* in vivo and in vitro. **Nutr Res.**, Oxford, v.18, n.11, p.1889-1897, 1998.
- KUMAMOTO, T.; KLEESE, W.C.; CONG, J.; GOLL, D.E.; PIERCE, P.R.; ALLEN, R.E. Localization of the Ca²⁺-dependent proteinases and their inhibitor in normal, fasted, and denervated rat skeletal muscle. **Anatomica Record**, v.232, p.60-77, 1992.
- LANCINI, J.B. Fatores exógenos na função gastrintestinal, aditivos. In: CURSO DE FIOLOGIA DA DIGESTÃO E ABSORÇÃO DE AVES, Santos, 1992. **Anais...** Santos: FACTA, 1992. p. 1-33.
- LANGER, R. O. S.; SOARES, A. L.; OBA, A.; ROSSA, A.; SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E. I. Effects of thermal stress on breast meat quality during broiler transportation to commercial processing plants in Brazil. In: XXIII World Poultry Congress 2008, Brisbane.
- LANGER R.O.S et al. Broiler Transportation Condition in a Brazilian Commercial line and the Occurrence of breast PSE (Pale, Soft, Exudative) Meat and DFD-like (Dark, Firm, Dry) Meat. Submetido ao BABT em 03/02/2009.
- LARA, J. A. F. Estresse térmico e incidência de carnes PSE em Frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas n.4 p-15, 2002.
- LARA, J. A. F. Carnes PSE (Pale, Soft, Exudative) em frangos. **Ocorrência de mutações no gene receptor da rianodina**. 101p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Universidade Estadual de Londrina, 2003.

- LAVAL, A. Use of antibiotics in swine production: advantages and limits. The problem of antibiogenesis. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 9., 1999, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: ABRAVES, 1999. P. 119-130.
- LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. Porto Alegre: Artmed Editora. 2005. 384p.
- LIMA, H. J. D. Prebiótico na dieta de frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n.4 p. 599-606, 2008.
- LIMA, J.M.M. Uso de aditivos na produção de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, Piracicaba, 1999. **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1999. p. 51-58.
- LODDI, M. M. Uso de probióticos e Antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de Carcaça de Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n.29 p- 1124-1131, 2000.
- LORENÇON L., NUNES R.V.N., POZZA P.C., POZZA M.S.S., APPELT M.D. & SILVA W.M.S. 2007. Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. **Acta Sci. Anim. Sci.** 29:151-158.
- MACARI, M. ; FURLAN, R. L. Probióticos. . In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, p 53-71. 2005.
- MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2., 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, p 161-174. 2000.
- MACFARLANE, G.T.; CUMMINGS, J.H. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? **BMJ**, London, v.18, p.999-1003, 1999.
- MAIORKA A., SANTIN N., SUGETA S.M., ALMEIDA J.G. & MACARI M. Utilização de prebióticos, probióticos ou simbióticos em dietas para frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, 3:75- 82. 2001.
- MARCHI, D.F. Development of a gás Chamber for detectin broiler Chicken Halothane Sensitivity and PSE (Pale, Soft, Exudative) Meat Formation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v 52, p 189-194, 2009.
- MARUTA, K. Probióticos e seus benefícios. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. **Anais...** Santos: APINCO, 1993. p.203-219.
- MATHEW, A.G. et al. Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weanling pig. **J Anim Sci**, Savoy, v.71, n.6, p.1503-1509,1993.
- McCURDY, R. D.; BARBUT, S.; QUINTON, M. Seasonal effects on pale soft exudative (PSE) occurrence in young turkey breast muscle. **Food Research International**, Essex, v.29, n.3/4, p.363-366, 1996.

- McKEE, S. R., SAMS, A. R. The effect of seasonal heat stress on rigor development and the incidence of pale, exudative turkey meat. **Poultry Science**, v.76, p.1616-1620, 1997.
- MELODY, J.L.; LONERGAN, S.M.; ROWE, L.J.; HUIATT, T.W.; MAYES, M.S.; HUFF-LONERGAN, E. Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1195-1205, 2004.
- MENTEN, J. F. M. **A produção animal na visão dos brasileiros: aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos**. Piracicaba: Editora Esalq, p. 141-157. 2001.
- MILLER, M.F.; CARR, M.F.; RAMSEY, C.B.; CROCKETT, K.L.; HOOVER, L.C. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v.79, p.3062-3068, 2001.
- MITCHELL, M. A.; KETTLEWELL, P. J. Sistemas de transporte e bem estar de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2003. Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, p.199-215, 2003.
- MORRISEY, P.A., et al. **Meat Science**, v.49, p.73-86s, 1998.
- MOSENTHIN, R.; BAUER, E. The potential use of prebiotics in pig nutrition. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RECENT ADVANCES IN ANIMAL NUTRITION, 2000, eoul. **Proceedings...** Seoul : Seoul National University, p.515–528. 2000.
- MURAKAMI, M.; KUDO, I. **Journal of Biochemistry**, v.131, p.285-292, 2002.
- MUTUS R., KOCABAG N., ALP M., ACAR N., EREN M. & GEZEN S.S. The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers. **Poult. Sci.** v.85, p. 621– 1625. 2006.
- NETO, A. B. Efeito de simbiótico e do sistema de criação sobre o desempenho e morfometria do epitélio gastrintestinal de frangos de corte tipo colonial. **Acta Sci. Anim. Sci.** Maringá, v.29, n4, p 379-385, 2007.
- NICOLI, J.R.; VIEIRA, L.Q. Probióticos, prebióticos e simbióticos – Moduladores do ecossistema digestivo. **Ciência Hoje**, São Paulo, v.28, n.163, p.34–38, 2000.
- NONBOE, U. Alternatives to the use of antibiotic growth promoters in farm animal. In: Seminário internacional de suinocultura, 40., São Paulo, 1999. **Anais...** São Paulo: GESSULI, 1999. p. 46-47.
- NORTHCUTT, J. K.; FOEGEDING, E. A.; EDENS, F. W. Water-holding properties of thermally preconditioned chicken breast and leg meat. **Poultry Science**, Ithaca, v.73, p.308-316, 1994.
- NURMI, E. Y RENTALA, M. 1973. **New Aspects of Salmonella infection in broiler production**. Nature: 210-211.

OBA, A. The effect Management of transport and Lairage Condition on Broiler Chicken Breast Meat Quality and DOA (Death on Arrival). **Brasilian Archives of Biology and Technology**, v 52, p 205-211, 2009.

O'HALLORAN, G.R.; TROY, D.R.; BUCLEY, D.J.; REVILLE, W.J. The role of endogenous proteases in the tenderization of fast glycolysing muscle. **Meat Science**, v.47, p.187-200, 1997.

O'BRIEN, P. J. Canine malignant hyperthermia / canine stress syndrome. In: **Ohnishi, S.T.; Ohnishi, T. Malignant hyperthermia. A genetic membrane disease**. 1st edition. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc.,1994. p. 105-116.

ODA, S. H. I., SCHNEIDER, J., SOARES, A. L., BARBOSA, D. M. L., IDA, E. I.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Detecção de cor em filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v.28, n.321, p.30-34, 2003.

ODA, S. H. I., NEPOMUCENO, A. L., LEDUR, M. C., OLIVEIRA, M. C. N., MARIN, S. S. R., IDA, E. I. & SHIMOKOMAKI, M. Quantitative differential expression of alpha and beta ryanodine receptor genes in PSE (Pele, Soft, Exudative) meat from two chicken lines. **Braz. Arch. Biol. Technol.** Curitiba, v.52, p. 1519-1525, 2009.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, v.8, p.245-281, 1983.

OFFER, G.; KNIGHT, P. the structural basis of water-holding in meat: general principles and water uptake in meat processing. In _____. **Developments in meat science**. New York: Elsevier 1988.

OLIVO, R. **Carne PSE em frangos**. 97p. Tese de doutorado (Universidade Estadual de São Paulo), 1999.

OLIVO, R.; GUARNIERI, P.D.; SHIMOKOMAKI, M. Fatores que influenciam na cor de filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**, v.25, n. 289, p.44-49, 2001.

OLIVO, R.; SOARES, A. L.; IDA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M. Dietary Vitamin E Inhibits Poultry PSE and Improves Meat Functional Properties. **J. Food Biochem.** v. 25, n. 4, p.271-283, 2001.

ORYOFO, B. A.; DELOACH, J. R.; CORRIER, D. E. Effect of carbohydrates on Salmonella typhimurium colonization in broilers chickens. **Avian Diseases**, v. 33, p. 531-534, 1989a.

ORYOFO, B. A.; DELOACH, J. R.; CORRIER, D. E. Prevention of Salmonella typhimurium colonization of broilers with D-mannose. **Poultry Science**, Champaign, v. 68, p. 1357- 1360, 1989b.

OWENS, C. M.; McKEE, S. R.; MATTHEUS, N. S.; SAMS, A. R. The development of pale, exudative meat in two genetic lines of turkeys subjected to heat stress and its prediction by halothane screening. **Poultry Science**, v.79, p.430-435, 2000.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**. [online]. mar./abr. 2003, vol.33, no.2 p.385-390. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782003000200034&lng=es&nrm=iso . Acessado em: 10/03/2010.

PATTERSON, J.A.; Burkholder, K.M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, v.82, n.4, p.627-631, 2003.

PEARSON, A.M.; YOUNG, R.B. **Muscle and meat biochemistry**. Academic Press, 457p. 1992.

PEDROSO, A.A. **Estrutura da comunidade de bactéria do trato intestinal de frangos suplementados com promotores de crescimento**. Tese de Doutorado em Ciência Animal e Pastagens, 2003.

PELICANO, E. R. L. Prebiotics and probiotics in poultry nutrition. **Revista Ciência Agrárias Saúde**. FEA, Andradina, v.2, n.1, p. 59-64, 2002.

PELICANO, E.R.L. et al. Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. **Rev. Bras. Cienc. Avic.**, Dec 2003, vol.5, no.3, p.207-214.

PELÍCIA K., MENDES A.M., TAKAHASHI S.E., SALDANHA E.S.P.B., PIZZOLANTE C.C., MOREIRA J., GARCIA R.G., OLIVEIRA R.P., QUINTERO R.R. & ALMEIDA I.C.L. Efeito de promotores de crescimento e do sistema de criação na qualidade da carne e lesão de coccidiose no trato digestivo de frangos de corte tipo colonial. **42ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 25-28 jul., Goiânia, GO. 1 CD-ROM. . 2005.

PELICIA, K. **Efeito de promotores biológicos e químicos sobre o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne em frangos de corte tipo colonial**. 61f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2004.

PIKUL J, LESZCZYNSKI DE, KUMMEROW FA (1989). Evaluation of tree modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 37: 1309-1313.

POSPIECH, E.; GREASER, M.L.; SOSNICKI, A.A. Titin changes in turkey breast muscle varying in quality. **Journal of Animal Science**, v.73, Suppl.1. (Abstract), p.161, 1995.

PUUPPONEN-PIMIÄ R., AURA A.M., OKSMAN-CALDENTY K.M., MYLLÄRINEN P., SAARELA M., MATTILA-SANDHOLM T. & POUTANEN K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Sci. Technol.** 13:3-11. 2002.

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

RADECKI, S.V.; YOKOYAMA, M.T. **Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition**. In: MILLER, E.R.; DUANE, E.U.; LEWIS, A.J. Swine nutrition. Boston : Butterworth-Heinemann, p.439-447. 1991.

RADECKI, S.V.; YOKOYAMA, M.T. **Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition**. Swine Nutrition, Boston, 1991. p. 439-447.

REVINGTON, B. Feeding poultry in the post-antibiotic era. In: MULTI-STATE POULTRY MEETING, Indiana, U.S.A. **Anais...** Capturado em 8 de janeiro , 2002. Online. Disponível em <http://ag.ansc.purdue.edu/poultry/multistate/Multistate.pdf>

ROBSON, R.M.; HUFF-LONERGAN, E.; PARRISH, F.C.; HO, C.Y.; STROMER, M.H.; HUIATT, T.W.; et al. Postmortem changes in the myofibrillar and cytoskeletal proteins in muscle. **Proceedings of the 50th annual reciprocal meat conference**.

ROSSEN, G.D., Antibacterials in poultry and pig nutrition. In: Wallace, R.J. e Chesson, A. **Biotechnology in animals feeds and animal feeding**.p. 143-172, 1996.

ROSTAGNO, H.S. Avaliação de prebióticos à base de mananoligossacarídeos em rações de frangos de corte, contendo milhos de diferentes qualidades nutricionais. APINCO. **Conferência de ciências e tecnologias avícolas**, p. 52 suplemento 5 – 2003, Campinas, SP.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. ; et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**, 2a. ed., 2005, UFV, Viçosa, p. 186. 2005.

ROWE, L.J.; LONERGAN, S.M.; ROTHCHILD, M.F.; HUFF-LONERGAN, E. Relationship between porcine Longissimus dorsi pH decline and μ -calpain activity/autolysis and protein degradation. **Journal of Animal Science**, v.79 (Suppl. 1), p.20 (Abstr), 2001a.

RUTZ, F.; LIMA, G.J.M.M. O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10, 2001, Porto Alegre, RS. **Anais...** Concórdia, SC: CNPSA, 2001. 10p.

Saad S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** 42:1-16. 2006.

SAIDO, T.C.; SUZUKI, H.; YAMAZAKI, H.; TANOUE, K.; SUZUKI, K. In situ capture of μ -calpain activation in platelets. **Journal of Biological Chemistry**, v.268, p.7422-7426, 1993.

SAMS, A.R. Meat quality during processing. **Poultry Science**, v.78, n.4, p.798-803, 1999.

SANDERCOCK, D. A.; HUNTER, R. R.; NUTE, G. R.; MITCHEL, M. A.; HOCKING, P. M. Cute heat stress-induced alterations in blood acid-base status and skeletal muscle membrane integrity in broiler chickens at two ages: Implications for meat quality. **Poultry Science**, Ithaca, v.80, p.418-425, 2001.

SANTOS, E.C.; TEIXEIRA, A.S.; RODRIGUES, P.B. et al. Uso de aditivos beneficiadores de crescimento sobre o rendimento de carcaça de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002.

SANTOS, H. C.; BRANDELLI, A.; AYUB, M. A .Z. Influence of post-mortem aging in tenderness of chicken breast fillets. **Ciência Rural**, v.34, n.3, p.905-910. 2004.

SANTOS, T.N. S., Silva, L.C., Martinez, R.A., Brito, B. G., Júnior, E.V.C., Tagliari, K.C., Ranucci, A.P., Gomes, L.M., Uso de simbiótico no controle de Salmonella Enteritidis em frangos de corte. **Avicultura Industrial** (Porto Feliz), v.03, p. 40-44, 2007.

SAVAGE, T. F.; COTTER, P. F.; ZAKREWSKA, E. I. Effect of feeding a mannan oligosaccharide on immunoglobulin, plasma IgG and bile IgA of Wrolstad MW male turkey. *Poultry Sci.* 75(Suppl.1):143. 1996.

SHEERY, P. J. A.; MORRISSEY, P. A. **Functional foods: prospects and perspectives.** In: HENRY, C. J. A.; HEPPELL, N. J. Nutritional aspects of food processing and ingredients. Gaithersburg: Aspen, p. 45-65. 1998.

SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E.I.; KRIESE, P.R.; SOARES, A.L. Calpaínas e Calpastatinas. In: OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.G.M. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes.** São Paulo: Varela, p.185- 194. 2006.

SIEGEL, H.S. **British Poultry Science**, v.36, p.312-329, 1995.

SILVA, E.N. Probióticos e prebióticos na alimentação de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, p. 241-251. 2000.

SILVA, L. P. da ; NORBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Cienc. Rural.** [online]. set./out. 2003, v.33, n.5, p. 983-990. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782003000500029&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 12 março 2010.

SILVA, J. A. O., SIMÕES, G. S., ROSSA, A., OBA, A., IDA, E. I., Shimokomaki, M. **Manejo e mortalidade de frangos em uma linha comercial.** submetido em 19 de outubro de 2009.

SIMÕES, G.S.; ROSSA, A.; OBA, A.; MATSUO, T.; SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E.I. Influência do Transporte em frangos PSE e a-DFD. **Revista Nacional da Carne**, v.383, p.20-30, 2009.

SOARES, A. L.; LARA, J. A. F.; IDA, E. I.; GUARNIERI, P. D.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Variation in the colour of brazilian broiler breast fillet. In: International **Congress of Meat Science and Technology**, v.48, p.540-541, Proceedings, Roma, 2002.

SOARES, A., L., IDA, E. I., MIYAMOTO, S., BLAZQUEZ, F. J. H., OLIVO, R., PINHEIRO, J.W. & SHIMOKOMAKI, M. Phospholipase A2 Activity in Poultry PSE, Pale, Soft, Exudative, **J. Food Biochemistry**, Trumbull, v. 27, n. 4, p. 309-319, 2003.

SOARES A.L, Carnes Pse (Pale, Soft, Exudative) E Dfd (Dark, Firm, Dry) Em Frangos E Rancidez Oxidativa, **Revista Nacional da Carne**, v 29, numero 345, 2005.

SOARES A. L. et al. Lipid oxidation and Fatty Acid Profile Related to Broiler Breast Meat Color Abnormalities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v 52, n 6, p 1513-1518, 2009.

SOLOMON, M.B.; VAN LAACK, R.L.J.M.; EASTRIDGE, J.S. Biophysical basis of pale, soft, exudative (PSE) pork and poultry muscle: a review. **Journal of Muscle Foods**, v.9, n.1, p.1-11, 1998.

SOSNICKI, A. A.; GREASER, M. L.; PIETRZAK, M.; POSPIECH, E.; SANTE, V. PSE-like syndrome in breast muscle of domestic turkeys; a review. **Journal Muscle Food**, Trumbull, v.9, n.1, p.13-23, 1998.

SPIEGEL, J. E. Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. **Food Techn**, Boston, v.48, p. 85-89, 1994.

St ANGELO, A.J. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.36, n.3, p.175-224, 1996.

STRICKLING, J.A. et al. Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: influences on nutrient digestion and microbial populations. **Anim Feed Sci Tech**, Amsterdam, v.86, n.2, p.205-219, 2000.

SWANN COMMITTEE BVA and RCVS evidence to the Swann Committee. **Veterinary Record**, jan.25, p.91-92, 1969.

SWATLAND, H.J. How pH causes paleness or darkness in chicken breast meat. **Meat Science**, p.396-40, 2008.

SWATLAND, H.J. **Structure and Development of Meat Animals and Poultry**. Boca Raton: CRC Press, 606p. 1994.

VARGAS JR. JG, TOLEDO RS, ALBINO LFT, ROSTAGNO HS, ROCHA DP. Uso de prebióticos em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**; 2 (Suplemento): 31, 2000.

VEERAMUTHU, G.I.; SAMS, A.R. Postmortem pH, myofibrillar fragmentation, and calpain activity in Pectoralis from electrically stimulated and muscle tensioned broiler carcass. **Poultry Science**, v.78, p.272-276, 1999.

WALKER, W.A.; DUFFY, L.C. Diet and bacterial colonization: Role of probiotics and prebiotics. **J Nutr Biochem**, New York, v.9, n.2, p.668-675, 1998.

- WANG, X.; GIBSON, G.R. Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. **J Appl Bacteriol**, Cambridge, v.74, n.4, p.373–380, 1993.
- WARRISS, P. D.; KESTIN, S. C.; BROWN, S. N. The Depletion of glycogen stores and levels of dehydration in transported broilers. **British Veterinary Journal**, London, v.149, n.4, p.391-398, 1993.
- WILHELM, A.E.; MAGANHINI, M.B.; HERNÁNDEZ-BLAZQUEZ, F.J.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Protease activity and the ultrastructure of broiler chicken PSE (Pale, Soft, Exudative) meat. **Food Chemistry**, in press, 2009.
- WISMER-PEDERSEN, J. Quality of pork in relation to rate of pH change post mortem. **Food Research**, Champaign, v.24, p.711-726, 1959.
- WOELFEL, R. L.; OWENS, C. M.; HIRSCHLER, E. M.; MARTINEZ-DAWSON, R.; SAMS, A. R. The characterization and incidence of pale, soft, and exudative broiler meat in a commercial processing plant. **Poultry Science**, Champaign, v.81, n.4, p.579-584, 2002.
- YAMASHITA, K.; KAWAI, K.; ITAKAMURA, M. Effects of fructooligosaccharids on bloodglucose and serum lipids in diabetic subjects. **Nutrition Research**, Fukuoka, v.4, p. 961-966, 1984.
- YASUI, H.; OHWAKI, M. Enhancement of immune response in Peyer's patch cells cultured with Bifidobacterium breve. **J Dairy Sci**, Champaign, v.74, n.4, p.1187-1195, 1991.
- YU B., LIU J.R., HSIAO F.S.; CHIOU P.W.S.. Evaluation of Lactobacillus reuteri Pg4 strain expressing heterologous α -glucanase as a probiotic in poultry diets based on barley. **Anim. Feed Sci. Technol.** no prelo. 2007.
- ZHANG, L.; BARBUT, S. Effect of regular and modified starches on cooked PSE, normal and DFD chicken breast meat batters. **Poultry Science**, v.84, p.789-796, 2005.
- ZHANG, W.G.; LONERGAN, S.M.; GARDNER, M.A.; HUFF-LONERGAN, E. Contribution of postmortem changes of integrin, desmin and μ -calpain to variation in water holding capacity of pork. **Meat Science**, v.74, p.578-585, 2009h.
- ZIOBER, I. L. Molecular Cloning of α RYR Hotspot Region 1 From Broiler Chicken, **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v 52, p 225-231, 2009.