

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



EFEITO DA INCLUSÃO DE 15% DE *ULVA LACTUCA* NA DIETA SOBRE A QUALIDADE
NUTRICIONAL E ANTIOXIDANTE DA CARNE DE FRANGO

MATEUS JOSÉ ANDRADE GUERRA

ORIENTADOR:
Doutor José António Mestre Prates

CO-ORIENTADORA:
Doutora Mónica Mendes da Costa

2024

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



EFEITO DA INCLUSÃO DE 15% DE *ULVA LACTUCA* NA DIETA SOBRE A QUALIDADE
NUTRICIONAL E ANTIOXIDANTE DA CARNE DE FRANGO

MATEUS JOSÉ ANDRADE GUERRA

DISSERTAÇÃO MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

ORIENTADOR:

Doutor José António Mestre Prates

VOGAIS:

CO-ORIENTADORA:

Doutora Mónica Mendes da Costa

Doutor José António Mestre Prates

Doutora Susana Paula Almeida Alves

2024

Nome: Mateus José Andrade Guerra

Título da Tese ou Dissertação: Efeito da inclusão de 15% de *ULVA LACTUCA* na dieta sobre a qualidade nutricional e antioxidante da carne de frango

Ano de conclusão (indicar a data da realização das provas públicas):

2024

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

Mestrado em Segurança Alimentar

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

☐

Clínica

☒

Produção Animal e Segurança Alimentar

☐

Morfologia e Função

Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

1. ☒ Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
2. ☐ Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de ☐ 6 meses, ☐ 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na

Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

1.

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

2. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

3. DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 20/02/2024

Assinatura: *Mateus José Andrade Guerra*

AGRADECIMENTOS

Ao meu Orientador, Professor Doutor José Prates, por ter me acolhido no seu projeto, por ter me incentivado em todos os momentos, pela paciência e por todo o conhecimento transmitido.

A Doutora Mónica Mendes da Costa, por todos os momentos de ensinamento, pela amizade, por me acompanhar ao longo da dissertação, por me explicar todo o funcionamento do laboratório, pela paciência e por sempre me motivar e confiar que sou capaz.

Aos professores do Mestrado em Segurança Alimentar.

A minha família e amigos, por me apoiarem todo o tempo, me ajudarem e sempre acreditarem em mim.

A Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, muito obrigado pelos ensinamentos.

EFEITO DA INCLUSÃO DE 15% DE *ULVA LACTUCA* NA DIETA SOBRE A QUALIDADE NUTRICIONAL E ANTIOXIDANTE DA CARNE DE FRANGO

Resumo

Este estudo avaliou o impacto, na qualidade nutricional e oxidativa da carne, da inclusão da macroalga *Ulva lactuca* nas dietas de frangos de carne. Os frangos foram alimentados durante 14 dias (n=10) com dieta controle (CON), dieta com 15% *U. lactuca* (UL), dieta com 0.005% mistura enzimática comercial (ULR), ou dieta com 0.01% ulvano liase (ULE). O objetivo foi investigar alterações na composição da carne em homólogos da vitamina E, β -caroteno, colesterol e peroxidação lipídica (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, TBARS).

A incorporação de *U. lactuca* não teve impacto significativo no peso corporal e no ganho médio diário, à exceção da dieta com ulvano liase, que diminuiu estes parâmetros. As dietas com *U. lactuca* aumentaram os níveis de β -caroteno, porém diminuíram os de α - e γ -tocoferol ($p < 0.001$). Não se observaram alterações nos níveis de colesterol e TBARS.

Conclui-se que a adição de 15% de *U. lactuca* às dietas de frangos, independentemente da inclusão de enzimas exógenas, não melhorou o desempenho produtivo nem a peroxidação lipídica da carne. Contudo, o aumento na deposição de β -caroteno sugere um benefício nutricional, enquanto a redução da vitamina E aponta para a necessidade de considerar a fortificação da dieta com este nutriente.

Palavras-chave: *Ulva lactuca*, macroalga, carboidrase, qualidade da carne, frango.

Effect of Including 15% *Ulva lactuca* in the Diet on the Nutritional and Antioxidant Quality of Broiler Chicken Meat

Abstract

This study evaluated the impact on the nutritional and oxidative quality of meat obtained with the inclusion of *Ulva lactuca*, a macroalgae, in broiler diets. The broilers were fed for 14 days (n=10) with a control diet (CON), diet with 15% *U. lactuca* (UL), diet with 0.005% commercial enzyme mixture (ULR), or diet with 0.01% ulvan lyase (ULE). The objective was to investigate changes in the composition of meat in homologues of vitamin E, β -carotene, cholesterol, and lipid peroxidation (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TBARS).

The incorporation of *U. lactuca* had no significant impact on body weight and average daily gain, except for the ulvan lyase diet, which decreased these parameters. Diets with *U. lactuca* increased β -carotene levels, but decreased α - and γ -tocopherol levels ($p < 0.001$). No changes were observed in the levels of cholesterol and TBARS.

In conclusion, the addition of 15% of *U. lactuca* to broiler diets, regardless of the inclusion of exogenous enzymes, did not improve the productive performance or lipid peroxidation of the meat. However, the increase in β -carotene deposition suggests a nutritional benefit, while the reduction in vitamin E points to the need to consider fortifying the diet with this nutrient.

Keywords: *Ulva lactuca*, macroalgae, carbohydrase, meat quality, broiler.

Índice

Resumo	iv
Abstract	v
Índice de Figuras	vii
Índice de Tabelas	viii
Lista de Abreviaturas e Símbolos	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Produção de frangos de carne	4
2.2. Composição da carne de frango	4
2.3. Incorporação de macroalgas na dieta de frangos	6
2.4. Suplementação das dietas dos frangos com enzimas	10
3. OBJETIVOS	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1. Delineamento experimental	14
4.2. Composição química das dietas	14
4.3. Peroxidação lipídica da carne	20
4.4. Determinação de vitaminas lipossolúveis e colesterol na carne	21
4.5. Análise estatística	22
5. RESULTADOS	23
5.1. Desempenho Produtivo	23
5.2. Estabilidade oxidativa da carne	24
5.3. Teor da carne em homólogos da vitamina E, caroteno e colesterol	25
6. DISCUSSÃO	26
7. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

Índice de Figuras

Figura 1. Macroalga <i>Ulva lactuca</i>	10
Figura 2. Distribuição dos diferentes <i>Ulva</i> sp. polissacarídeos da parede celular em uma seção transversal esquemática de um talo (A) e associações propostas entre os diferentes polissacarídeos da parede celular (B).	12
Figura 3. Estrutura do principal dissacarídeo repetitivo na <i>Ulva</i> sp., ulvano: ácido ulvanobiurónico.	12
Figura 4. Aves no experimento.	20
Figura 5. Tubos do ensaio, aspirou-se a fase superior de n-hexano de cada amostra para novos tubos contendo sulfato de sódio anidro.	22

Índice de Tabelas

Tabela 1. Composição química das Macroalgas (expressa em matéria seca)	8
Tabela 2. Ingredientes e suplementos alimentares dos tratamentos dietéticos (% na base da dieta)	16
Tabela 3. Composição química de <i>U. lactuca</i> e dietas	18
Tabela 4. Desempenho de crescimento dos dias 21 a 35 nos frangos alimentados com as dietas experimentais. (n=10)	24
Tabela 5. Resultados das dietas experimentais na peroxidação lipídica, medida como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), da carne (n=10).	25
Tabela 6. Resultados da dieta de vitaminas lipossolúveis, β -caroteno e colesterol na carne de coxa e peito do frango(n=10)	26

Lista de Abreviaturas e Símbolos

% – Percentagem

< – Menor que

= – Igualdade

> – Maior que

® – Marca registada

µl – Microlitros

BHT – Hidroxitolueno butilado

CAZymes – Enzimas degradadoras de hidratos de carbono

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

cm – Centímetros

CON – Controlo

d – Dia

DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária

DHA – Docosahexaenoico

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

EPA – Ácido eicosapentaenóico

EPM – Erro padrão da média

EUA – Estados Unidos da América

FMV – Faculdade de Medicina Veterinária

g – Gramas

GLM – General Linear Models

ISA – Instituto superior de Agronomia

kg – Quilogramas

l – Litro

LNA – Ácido α-linolénico

MDA – Malondialdeído

mg – Miligrama

MIXED – modelo misto

ml – Mililitro

MS – Matéria Seca

MUFA – Ácidos gordos monoinsaturados

n.d. – Não detetado

n-3 – Ómega-3

n-6 – Ómega-6

NaCl – Cloreto de sódio

n-hexano – Hidrocarbonetos alcanos

nm – Nanómetro

°C – Grau centígrado

ORBEA – Órgão Responsável pelo Bem-estar dos Animais

PUFA – Ácido gordo polinsaturado

p-Value – Probabilidade de significância

Rpm – Rotações por minuto

SAS – Sistema de análise estatística

TBA – Ácido 2-tiobarbitúrico

TBARS – Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TCA – 2,4,6-tricloroanisol

UL – *Ulva lactuca*

UL-FMV – Universidade de Lisboa -

Faculdade de Medicina Veterinária

ULE – *U. lactuca* + Enzima

ULR – *U. lactuca* + Rovabio

α – Alfa

β – Beta

γ – Gama

δ – Delta

μm – Micrómetro

1. INTRODUÇÃO GERAL

O período de estágio efetuado na área de bioquímica teve a duração de aproximadamente quatro meses, começando no dia 04 de outubro de 2021 e finalizando no dia 14 de fevereiro de 2022. O estágio foi realizado no laboratório de Bioquímica da Universidade de Lisboa sob orientação do Doutor Professor José António Mestre Prates e co-orientação da Doutora Mónica Mendes da Costa, e com acompanhamento do Doutor José Miguel Pestana.

Durante o estágio, acompanhei e executei os processos respeitantes à avaliação da peroxidação lipídica da carne e posterior medição das absorvências. A determinação de vitaminas lipossolúveis e colesterol na carne foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando detectores de fluorescência e de diódo, respectivamente. Embora não tivesse analisado os cromatogramas respectivos, tive a oportunidade de compreender as análises que estavam sendo efectuadas pela equipa.

Apesar de não estar presente durante o processo de crescimento dos animais e recolha das amostras, pois ingressei no estágio após essas atividades terem sido realizadas no ISA (Instituto Superior de Agronomia), tive o conhecimento de todo o processo realizado anteriormente.

Após essa fase, foi acompanhado o processo de extração dos lípidos e de transesterificação combinada ácida e básica dos ácidos gordos e posterior análise por cromatografia gasosa. Igualmente, tive a oportunidade de acompanhar os ensaios preliminares para as incubações *in vitro* com a microalga *Spirulina*, *Arthrospira platensis*, com o objetivo de testar diferentes pré-tratamentos, incluindo calor seco, extrusão, liofilização, microondas e moagem, bem como a optimização da medição da quantidade de proteína libertada da biomassa da alga após os tratamentos utilizando o método Bradford.

1.1 INTRODUÇÃO

No mundo existe a procura por novos meios de consumo ou alternativas mais saudáveis e sustentáveis, além de uma procura maior em relação à segurança e à qualidade dos alimentos que serão consumidos. A informação para o consumidor está cada vez mais acessível de várias formas, como por exemplo saber todo o processo do alimento desde a sua produção até ao momento do consumo. Muitos fatores estão diretamente associados à qualidade das carnes: nutrição, sexo, transporte, idade, temperatura, manejo, jejum, tecnologia do abate, resfriamento e outras (Mendes e Komiyama, 2011; Coudert *et al.* 2020).

O consumo de carne no mundo de um modo geral tem aumentado para as aves em detrimento das outras carnes. Nos países em desenvolvimento as pessoas procuram a carne de aves pelo preço mais baixo em comparação com outras carnes, enquanto nos países de renda elevada há um aumento da preferência por carne branca, pois são convenientes de preparar e percebidas como mais saudáveis (menos predisposição ao surgimento de doenças cancerígenas e cardiovasculares) (FAO 2021). Sabemos que em uma análise genética o peito de frango é considerado uma carne saudável, magra e com pouca gordura intermuscular (Palmquist 2009). Os atributos sensoriais da carne são totalmente relevantes, sendo eles, suculência, sabor, aparência geral e ternura (Oddy *et al.* 2001). O índice de fragmentação miofibrilar, que possibilita a correlação positiva com a variável de tenrura da carne, pode ser caracterizado como o acontecimento da quebra das miofibrilas em segmentos menores na linha Z ou próximos a ela no decorrer do processo *post-mortem* (Ganeco 2016).

A distribuição mundial de frangos em larga escala, vem acompanhada dos sistemas de alimentação, principalmente balanceados com o uso de cereais diversos. Muitos cereais podem ser substituídos por novas fontes de alimentos para as aves. A utilização dos derivados de macroalgas no cotidiano da indústria pode ser observada devido aos seus benefícios alimentares e na qualidade da carne de animais de produção, visto que a alga tem níveis interessantes de macronutrientes e riqueza em ácidos gordos mono e polinsaturados benéficos para a saúde, carotenoides antioxidantes e minerais (ex.: iodo). A *Ulva lactuca* é uma macroalga verde (*Chlorophyta*), cujos nutrientes podem afetar positivamente a produção de animais monogástricos (Costa *et al.* 2021).

O uso *in vivo* das enzimas exógenas não demonstrou ser eficaz na capacidade de degradar a parede celular da microalga, mas a sua incorporação pode ser usada como parte de ingrediente em dietas para aves, e não afetar negativamente a qualidade nem o crescimento da carne de frango (Jesus 2020).

Em geral, a incorporação de macroalgas na alimentação animal teve efeitos benéficos no desempenho produtivo, no crescimento e no perfil em ácidos gordos, principalmente

relacionados a ácidos gordos polinsaturados ómega-3, em especial o DHA e o EPA, do leite e da carne (Mota 2018).

Deste modo, torna-se importante avaliar o efeito da incorporação das algas na dieta de frangos sobre a qualidade nutricional.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Produção de frangos de carne

A produção de carne de frango cresceu ao longo dos anos tanto em Portugal como no Brasil e no mundo. Em 2022, no Brasil, a produção foi de 14,524 milhões de toneladas, sendo 0,195 milhões de toneladas a mais que no ano anterior (ABPA 2023).

A produção em Portugal em 2021 foi de 312 mil toneladas de frangos, 2,543 mil a mais que no ano de 2020. No ano de 2023, em abril, foram produzidos em Portugal quase 17 milhões de frangos de carne (Statista 2023).

O crescimento previsto do consumo global de proteínas de carne durante a próxima década é de 14%, até 2030, em comparação com a média do período base de 2018-2020, impulsionada em grande parte pelo rendimento e pelo crescimento populacional. A disponibilidade de proteínas da carne bovina, suína, de aves e ovina deverá crescer 5,9%, 13,1%, 17,8% e 15,7%, respetivamente, até 2030 (FAO 2021).

Em consequência do seu alto valor nutritivo e do preço mais acessível, a carne de frango está disponível no mercado de forma abrangente e atualmente é uma das mais consumidas no mundo. O aumento do consumo dessa particular proteína tem aumentado de forma contínua ao longo dos anos, apesar de a preferência dos consumidores para com o tipo de carne, como bovina, suína e de frango, variar de acordo com países, locais e indivíduos (Brito e Coelho 2021).

O nível global de consumo de carne de frango vem aumentando há muitos anos. Vários fatores contribuem para esse fenómeno, sendo alguns deles o preço competitivo da carne de frango em relação a carnes vermelhas (ex: ruminantes e suíno), a associação a uma carne mais saudável em comparação com a carne de ruminantes que tem tido uma diminuição no seu consumo por estar associada à ocorrência de doenças cardiovasculares e alguns tipos de cancro; e a qualidade nutricional da carne de frango. Basicamente a carne de frango é rica em proteínas e minerais e pobre em lípidos (Santos 2019).

2.2. Composição da carne de frango

A composição química da carne de frango geralmente varia em relação as variações de proteína, humidade e gordura. Outros componentes da carne de frango abrangem vitaminas, minerais, com lugar de evidencia para o cálcio, fosforo e ferro e pigmentos geralmente provenientes da dieta (Bragagnolo 2001, Castaneda 2005) . Na maior parte dos casos, a carne de frango é composta de 60% a 80% de água e 15% a 25% de proteína. Entretanto, a quantidade de lípidos existentes na composição muscular das aves pode variar, de acordo com sexo, idade, ambiente de criação dos animais e dieta. Os valores variam entre

1,33% de lípidos na carne do peito, apresentando valores um pouco mais elevados para a carne da coxa 3,45% (Bragagnolo 2001, Barroeta 2007, Pestana *et al.* 2020). A carne de frango apresenta um rácio positivo de ácidos gordos insaturados/saturados, o que tem efeitos benéficos para a saúde humana (Barroeta 2007).

A composição da dieta das aves atua diretamente no perfil de ácidos gordos da carne, e consequentemente na sua qualidade. Os ácidos gordos n-3 PUFA podem ser encontrados na carne de frango alimentados com dietas que possuem sementes de linhaça ou na inserção de pastagem, sendo assim possível obter a melhora dos níveis de ácidos α -linolénico (LNA) na carne. Todavia, podem ser inseridos na dieta níveis significativos de óleo de peixe ou algas, ocasionando assim o aumento de teores de ácido eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) na carne. As principais fontes de n-6 PUFA para as dietas das aves são algumas sementes tais como a canola, soja e etc., enquanto as fontes de n-3 PUFA incluem as sementes de linhaça, as farinhas de peixe e seus derivados e as algas (Santos 2019).

Com isso a oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração da carne, alterando diversas características sensoriais (cheiro, cor, sabor) e valor nutricional (perda de vitaminas, ácidos gordos essenciais) o que influencia a qualidade da carne e causa implicações diretas sobre o seu valor comercial. Assim sendo é de extrema importância suplementar a dieta com antioxidante como a vitaminas E (Barroeta 2007).

A vitamina E é de importância fundamental, uma vez que no processamento de alimentos cárneos, um dos pilares mais importantes diz respeito aos métodos usados para diminuir o início da perda de qualidade e da oxidação. A vitamina E com as suas capacidades antioxidantes lipossolúveis, tem como uma de suas funções proteger e manter as membranas biológicas contra a peroxidação lipídica (Buckley *et al.* 1995).

A importância de pigmentos e da vitamina E e ácidos gordos polinsaturado vão ajudar a prevenir a oxidação lipídica que junto com o desenvolvimento microbiano constituem os preponderantes condicionantes da estabilidade da qualidade da carne. (Buckley 1995; Morrissey 1998). A vitamina E é constituída de compostos lipossolúveis em que as suas formas de origem natural contém 4 tocotrienóis e 4 tocoferóis podendo ser α -, β -, γ - ou δ -. O que pode diferir nas posições e números dos grupos metilo no anel aromático (Machlin 1991).

Quando administrada em ratos foi observado que a vitamina E exerceu um papel protetor contra os efeitos tóxicos do cádmio, nos valores do sistema hematológico, na peroxidação lipídica, assim como em componentes enzimáticos e não enzimáticos do sistema de defesa antioxidante. A vitamina E também atua nas alterações oxidativas que ocorrem em outras células. Além disso, a vitamina E consegue atuar sinergicamente, a fim de prevenir a peroxidação e destruição lipídica (Ognjanović 2003).

No estudo desenvolvido por Surai *et al.* (2019) foi observado que quanto maior é a

suplementação de vitamina E na dieta, maior a sua resistência a variados fatores como o estresse oxidativo, estresse térmico e até ácidos gordos polinsaturados elevados (PUFA). Nas aves macho foram observados aumentos significativos dos níveis de α -tocoferol no sémen, que tem grande impacto na resistência ao estresse oxidativo imposto por fatores externos. Da mesma maneira para as aves fêmeas, foi observado que devido a suplementação dietética, a gema do ovo mostrou ter um aumento da concentração de α -tocoferol nos tecidos e em pintinhos recém eclodidos, tendo assim aumento das defesas antioxidantes e diminuição da peroxidação lipídica.

2.3. Incorporação de macroalgas na dieta de frangos

As macroalgas têm sido estudadas como um recurso marinho natural para uma série de aplicações industriais relevantes, entre as quais a produção de biocombustíveis, fármacos, compostos bioativos e alimentação humana e animal (Burg *et al.* 2013).

As algas são de extrema importância e necessárias para os ecossistemas se manterem em equilíbrio, com funções no controlo do efeito de estufa através do processo de biorremediação. Para além disso, as algas são uma fonte tão rica em nutrientes que podemos beneficiar de várias formas das suas aplicações, e uma delas consiste em suplementar as dietas de animais de produção. A classificação das macroalgas são *Chlorophyceae* (algas verdes), *Phaeophyceae* (algas marrons), *Rhodophyceae* (algas vermelhas). Os gêneros de macroalgas mais comuns usados nas dietas dos animais são: *Ascophyllum*, *Laminaria* e *Undaria* para algas marrons; *Ulva*, *Codium* e *Cladophora* para algas verdes; e *Pyropia*, *Chondrus* e *Palmaria* para algas vermelhas. Até o momento, a incorporação de macroalgas em dietas de animais de pecuária demonstrou melhorar o crescimento e a qualidade da carne, dependendo da espécie de alga, nível na dieta e estágio de crescimento do animal (Costa *et al.* 2021).

As composições nutricionais das algas dependem das condições de crescimento, estirpe e espécie. As macroalgas são formadas especialmente por carotenoides, minerais, proteínas, lípidos, vitaminas e hidratos de carbono (Madeira *et al.* 2017).

A inserção de ácidos gordos polinsaturados ómega-3, especialmente ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA), na alimentação tem sido associada a seus efeitos vantajosos na saúde humana. Entre os exemplos é possível notar a redução da doença vascular cerebral, arteriosclerose, processos inflamatórios e doenças metabólicas como a obesidade e o cancro (Mota 2018).

Embora as microalgas tenham um conteúdo mais elevado de ácidos gordos, a macroalga também tem valores altos de ácidos gordos. Algumas macroalgas têm valores altos de ácidos gordos com as algas vermelhas entre as quais *Porphyra* com media 25,2%, algas

castanhas entre as quais laminarias 11,8% em média e algas verdes entre elas a alga ulva com uma média de 1,6% (Costa *et al.* 2021).

A macroalga verde *U. lactuca* (Figura 1) foi selecionada para este estudo devido alguns fatores abaixo. Os tipos de macroalgas que tem maior teor de proteína são algas vermelha (30-50%) e verdes (8,7- 32,7%) (Harnedy e FitzGerald 2011). As algas verdes são ricas em compostos bioativos, como pigmentos (ex: carotenoides e clorofila) e polissacáridos como por (ex: ulvano) (Tabela 1). Para além disso as macroalgas verdes tem uma maior produtividade em área (20 t MS ha⁻¹) comparativamente a outras macroalgas. (Burg *et al.* 2013) No entanto, a composição da macroalga sofre uma variação sazonal, com influência, entre outros fatores, de nutrientes dependentes da época do ano e tempo de exposição solar (Holdt e Kraan 2011).

Tabela 1. Composição química das Macroalgas (expressa em matéria seca) (Costa *et al.* 2021).

Composição química	<i>Laminaria</i> sp. (alga marrom)	<i>Ulva</i> sp. (alga verde)	<i>Porphyra</i> sp. (alga vermelha)
Gordura bruta (%)	0,5 -1,3 (0,9)	0,1 - 6,6 (2,0)	0,7- 3,0 (1,6)
Proteína bruta (%)	0,6 -16,1 (7,7)	4,8 - 41,8 (15,8)	24,1- 44,0 (32,7)
Cinzas (%)	23,3 -73,0 (35,7)	11,3 - 49,6 (24,0)	9,3 - 29,6 (18,0)
Carotenoides (mg/kg)	25,71 ¹	169 - 2550(1085) ^{2,5}	72, 71 ¹ -1630
Clorofila (mg/kg)	174 - 224 ⁴ (199) ³	368 - 8500 (5217)	508 ¹
Vitamina E (mg/kg)	3,0 - 2000 (511)	2,8 - 35,0 (15,6)	10,6 -14,3 (12,8)

¹Os valores são expressos com base no peso fresco. ²inclui valores de talos de algas. ³ soma de clorofila a e clorofila c. ⁴valor obtido de rizoide de algas ⁵O teor de carotenoides relatado com base no peso fresco foi convertido em peso seco estimando o teor de umidade de 80%, conforme Eismann, et al. (2020)

A macroalga *U. lactuca* tem uma alta capacidade de proliferação. Essa alga tem a capacidade de adotar diferentes fenótipos consoante os parâmetros ambientais, como grau de salinidade da água ou simbiose com bactérias. Essa macroalga contém componentes comerciais valiosos, como bioativos, alimentos ou biocombustíveis (Dominguez 2019).

Além disso as macroalgas podem ser uma forma sustentável para obter n-3 PUFA, os quais estão também presentes no peixe. Desta forma, a utilização de algas para fortificação das dietas de frango pode ajudar na proteção de algumas espécies de peixe em todo o mundo, permitindo a redução do seu consumo, uma vez que, dependendo da espécie da alga, enriqueceriam a carne de frango com n-3 PUFA importantes para a saúde do consumidor (Costa *et al.* 2021, Zatti *et al.* 2023). Da mesma forma as macroalgas vão ajudar na sustentabilidade do meio ambiente e dos recursos naturais. Contudo, as diversas aplicações das algas implicam um uso rentável e uma taxa de produção relativamente elevada, representando um grande desafio para as técnicas de cultivos atuais. Também de certa forma a indústria de alimentos precisa de desenvolver tecnologias, como pré-tratamentos e biotecnologia enzimática, para melhorar a biodisponibilidade dessas macroalgas, assim sendo mais bem absorvidas pelos animais monogástricos (Madeira *et al.* 2017; Burg *et al.* 2013).

Tendo em vista a necessidade de implementação ou suplementação de enzimas endógenas nos animais de produção, foi criada a prática da introdução dessas enzimas na alimentação animal. Essa prática teve seu início no começo dos anos 80 e desde então, torna possível o uso mais económico de matérias-primas, uma vez que possibilita a maior absorção e aproveitamento de seus nutrientes, proporcionando a diminuição de desperdícios e assim, traz também vantagens nos parâmetros produtivos do animal e na redução do impacto ambiental gerado. Em suma, as enzimas são responsáveis pela destruição de compostos que possam interferir com a digestão, absorção e utilização dos mesmos. Além disso, são responsáveis ainda pelo crescimento da digestibilidade das dietas (Santos 2019).

A vitamina E é encontrada nas macroalgas e sua presença atua na forma de interrupção das cadeias oxidativas dos lípidos e nos seus processos consecutivos de auto-oxidação, sendo um vigoroso sequestrador de radicais livres e protetor de ácidos gordos polinsaturados, os fosfolípidos das membranas biológicas e as lipoproteínas plasmáticas (Santos 2019).

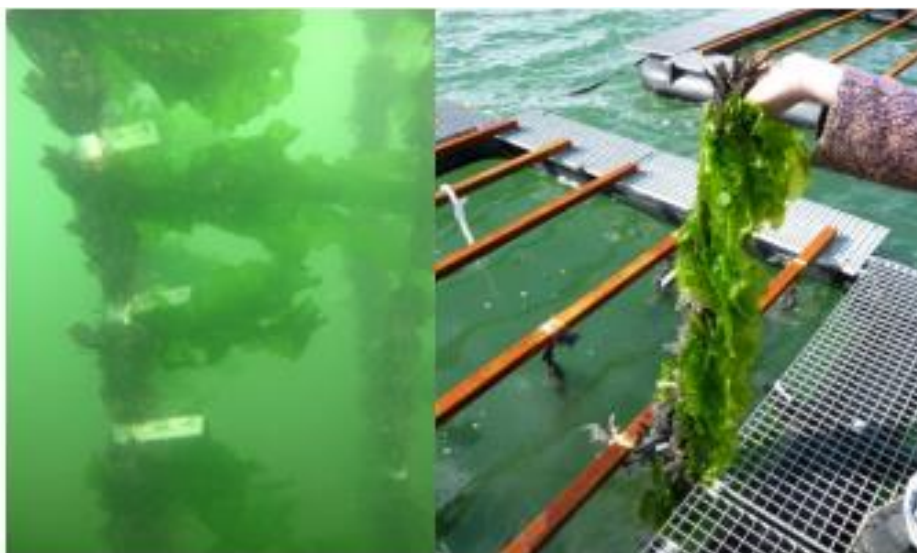


Figura 1. Macroalga *Ulva lactuca* (Burg et al. 2013).

2.4. Suplementação das dietas dos frangos com enzimas

O aparelho digestivo dos animais monogástricos não consegue digerir os hidratos de carbono estruturais de forma autónoma, pois não produz o reportório de enzimas necessário à quebra das suas ligações. As enzimas são os catalisadores das reações químicas que ocorrem nos seres vivos (Santos 2019).

As enzimas aceleram as reações químicas que ocorrem nos seres vivos e a maior parte são de origem proteica, assim são responsáveis pelas reações de catalisação no sistema biológico e por serem dessa natureza proteica revelam um auto grau de especificidade para seu substrato, participando em encadeamento de aminoácidos e acelerando esse processo químico, sem se consumir (Lucio et al. 2021).

Diversos estudos constataam que a inserção de macroalgas na dieta pode trazer melhoria para o desempenho e eficiência do crescimento das aves. As paredes celulares das macroalgas contam com a presença de polissacáridos recalcitrantes com efeitos anti nutricionais para animais monogástricos como aves e suínos. Em especial na macroalga *Ulva sp.*, os polissacáridos das paredes celulares representam cerca de 38-54% da matéria seca. Estes incluem quatro famílias: duas principais, o ulvano solúvel em água e a celulose insolúvel, e duas menores, um xiloglucano linear solúvel em álcali e um glucuronano (Lahaye e Robic 2007) (Figuras 2 e 3). As carboidrases são importantes para degradar esses polissacáridos, liberando compostos nutritivos da alga e permitindo ao animal absorver melhor os alimentos ingeridos. De facto, Costa et al. (2022), demonstrou que a enzima ulvano liase PL25 recombinante rompeu parcialmente a barreira celular da *U. lactuca* sob condições fisiológicas. Essa capacidade enzimática disponibiliza compostos bioativos valiosos para a

indústria de alimentos compostos e para biotecnologias (Dominguez 2019; Lahaye e Robic 2007). O ulvano é um polissacarídeo sulfatado gelificante com atividades biológicas incluindo imunomoduladora, antiviral, antioxidante, anti-hiperlipidêmica e anticancerígena. Este composto também tem a capacidade de modular processos de sinalização celular em sistemas vegetais e animais, levando a efeitos benéficos na produtividade e na saúde. Consequentemente, o ulvano é de interesse significativo como constituinte em produtos de saúde humana, agrícolas e biomateriais. (Kidgell *et al.* 2019), sendo assim importante a sua extração da *Ulva sp.* Considerando as propriedades gelificantes do ulvano, a degradação deste polissacárido permite diminuir a viscosidade da digesta e aumentar a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta de monogástricos como sugerido por Costa *et al.* (2022).

Recentemente, como consequência das pressões por uma sociedade cada vez mais verde, visando desenvolver abordagens sustentáveis para degradar a biomassa vegetal para a geração de biocombustíveis, houve um aumento exponencial na identificação de enzimas ativas de carboidratos (CAZymes). Essas enzimas estão envolvidas na desconstrução da parede celular vegetal, quebrando ou modificando ligações glicosídicas em uma infinidade de polissacarídeos estruturais. Além de sua utilização na produção de combustíveis renováveis através da produção de açúcares fermentáveis a partir da biomassa das plantas, as CAZymes também podem ser aplicadas em outros processos industriais e agrícolas, como, por exemplo, na suplementação alimentar animal. A adição de enzimas exógenas em preparações dietéticas para animais monogástricos aumenta a disponibilidade de nutrientes através da degradação de polissacarídeos solúveis anti-nutricionais no trato gastrointestinal (Fernandes 2015).

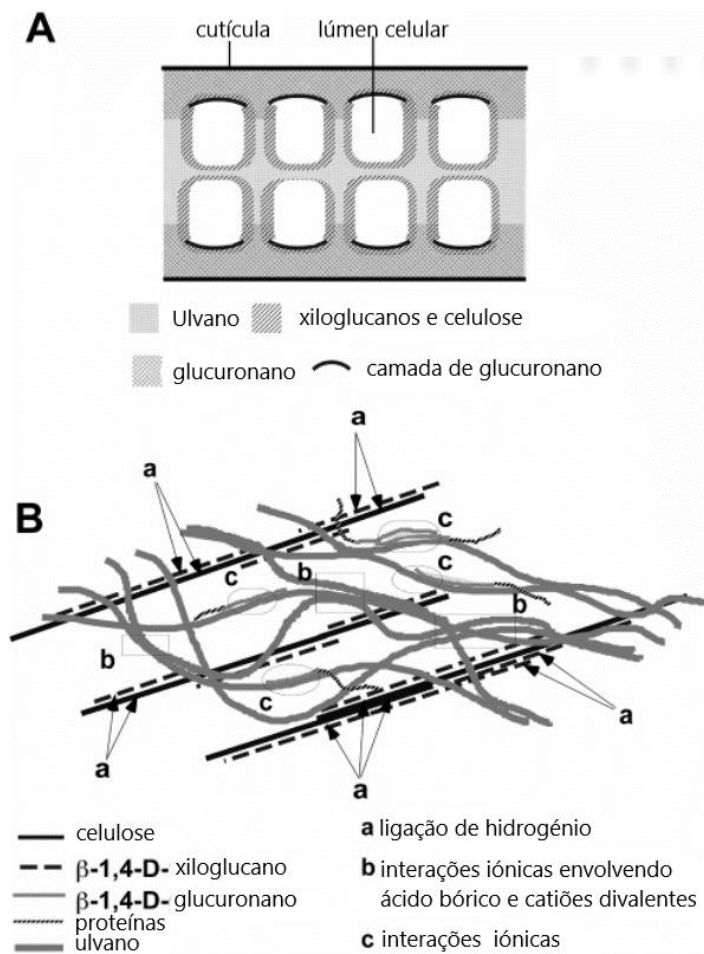


Figura 2. Distribuição dos diferentes *Ulva* sp. polissacarídeos da parede celular em uma seção transversal esquemática de um talo (A) e associações propostas entre os diferentes polissacarídeos da parede celular (B). (Lahaye e Robic 2007)

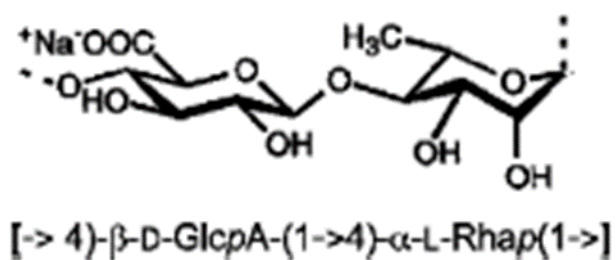


Figura 3. Estrutura do principal dissacarídeo repetitivo na *Ulva* sp., ulvano: ácido ulvanobiurónico. (Lahaye e Robic 2007)

3. OBJETIVOS

O objetivo principal deste estudo consistiu em investigar o impacto da inclusão de *U. lactuca*, uma macroalga, na dieta de frango de carne, especificamente em relação às características nutricionais, desempenho produtivo e antioxidantes da carne produzida. A *U. lactuca*, utilizada como ingrediente em 15% da dieta, é avaliada tanto na sua forma natural quanto em combinação com enzimas carboidrases, abrangendo tanto formas recombinantes testadas in vitro quanto misturas enzimáticas comerciais.

Os objetivos específicos do trabalho consistiram na avaliação:

1) do efeito da adição de *U. lactuca* nas dietas de frangos de carne na composição de homólogos da vitamina E na carne, explorando o potencial antioxidante dessa intervenção dietética.

2) da investigação do impacto da combinação de *U. lactuca* com carboidrases, tanto recombinantes quanto comerciais, na melhoria dos perfis nutricionais e bioativos da carne, com foco especial na peroxidação lipídica.

3) do teste da hipótese de que a degradação enzimática da *U. lactuca* pode potencializar os efeitos antioxidantes na carne, aumentando assim a presença de compostos bioativos e contribuindo para uma melhor qualidade nutricional.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento experimental

A Comissão de Ética do ISA, ORBEA (código de protocolo 1/ORBEA-ISA/2020, data de aprovação 7 de julho de 2020) e a Autoridade Nacional de Saúde Animal (DGAV), na sequência do Despacho 2010/63 /Diretiva da UE autorizaram os procedimentos com os animais.

Para a realização do presente estudo foi utilizado um ensaio de frangos de carne, que decorreu no Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa. Cento e vinte machos da linhagem Ross 308 foram recebidos da empresa Quinta da Freiria. Todas as aves foram pesadas, anilhadas e de forma aleatória colocadas em 40 gaiolas de crescimento em lotes de 3 com condições de humidade e temperaturas controladas. As aves foram alimentadas com uma dieta de crescimento, formulada de acordo com as respetivas exigências nutricionais, nos primeiros 20 dias, à base de milho e soja. Depois, no período de 21 a 35 dias, as aves foram alimentadas sem restrições com 4 dietas experimentais com 10 réplicas por tratamento (Figura 4). As dietas experimentais foram a dieta controlo (CON) à base de milho e soja; dieta com 15% de *U. lactuca* em pó (Algolesko; Plobannalec-Lesconil, Brittany, France) (UL); dieta com 15% de *U. lactuca* em pó e 0,005% de mistura enzimática comercial, Rovabio (ULR); e dieta com 15% de *U. lactuca* em pó e 0,01% da ulvano liase (ULE) descrita por Costa *et al.* (2022). Os ingredientes das dietas experimentais são mostrados na Tabela 2. A composição nutricional das dietas e da alga está presente na Tabela 3. As administrações dessas dietas foram feitas durante 2 semanas (dia 21 a 35). Após 35 dias os animais foram abatidos (n=10) por eletronarcose seguido de destroncamento do pescoço. A quantidade de alimento fornecido e a mortalidade foram registados diariamente e o consumo de alimentos e o peso vivo foram registados semanais. Com esses valores, calculou-se o ganho de peso diário, a mortalidade, a ingestão diária de alimento e o índice de conversão. Em seguida ao abate ocorreu a recolha dos músculos peitoral maior e músculos da coxa. Essas amostras foram divididas e uma parte conservada a -20 °C para a determinação de vitaminas lipossolúveis e colesterol, e outra foi conservada a -80 °C para a determinação dos TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico) e, assim, da peroxidação lipídica. Os parâmetros de desempenho de crescimento, incluindo ganho médio diário, do consumo médio diário da dieta e conversão alimentar, foram determinados por meio de pesagem semanal dos animais e dos comedouros.

4.2. Composição química das dietas

As dietas e as algas foram analisadas e as suas composições químicas apresentadas

na Tabela 2. O procedimento da AOAC (2000) foi usado para determinar a quantidade de matéria seca, proteína bruta, gordura bruta, cinzas e energia bruta das macroalgas e das dietas. A matéria seca (MS) foi determinada secando uma amostra a 100 °C até um peso constante. A proteína bruta foi calculada como $6,25 \times N$, sendo N a quantidade de azoto determinado com o método de Kjeldahl. O teor de cinzas foi estabelecido colocando a amostra a uma temperatura de 550 °C numa mufla. A gordura bruta foi extraída da amostra com éter de petróleo usando um extrator Soxhlet automático (Gerhardt Analytical Systems, C. Gerhardt GmbH & Co. KG, Königswinter, Alemanha). A energia bruta foi definida por calorimetria numa bomba adiabática (Parr 1261, Parr Instrument Company, Moline, IL, EUA).

Tabela 2. Ingredientes e suplementos alimentares dos tratamentos dietéticos (% na base da dieta).

Item	Tratamentos dietéticos ¹			
	Controle	UL	ULR	ULE
Milho	50,4	43,7	43,7	43,7
Farelo de soja	41,2	33,2	33,2	33,2
Óleo de girassol	4,80	5,98	5,98	5,98
Cloreto de sódio	0,38	0,00	0,00	0,00
Carbonato de cálcio	1,10	0,00	0,00	0,00
Fosfato bicalcico	1,60	1,40	1,40	1,40
DL- metionina	0,120	0,170	0,170	0,170
L-lisina	0,000	0,120	0,120	0,120
Premix vitamínico-mineral	0,400	0,400	0,400	0,400
<i>Ulva lactuca</i> em pó	-	15,0	15,0	15,0
Mistura enzimática comercial	-	-	0,005	-

Ulvano liase recombinante	-	-	-	0,01
------------------------------	---	---	---	------

¹Controle, dieta à base de milho e soja; UL, dieta controle com 15% de *U. lactuca*; ULC, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,005% de mistura enzimática comercial; ULE, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,01% de ulvan liase recombinante. ²Premix forneceu os seguintes nutrientes por kg de dieta: vitamina A 10000 UI, ácido pantotênico 10 mg, vitamina B1 2 mg, vitamina B2 4 mg, vitamina B6 2 mg, ácido fólico 1 mg, cianocobalamina 0,02 mg, vitamina D3 2400 UI, vitamina K32 mg, ácido nicotínico 25 mg; vitamina E 30 mg, Cu 8 mg, Fe 50 mg, I 0,7 mg, Mn 60 mg, Se 0,18 mg e Zn 40 mg.

Tabela 3. Composição química de *U. lactuca* e dietas

Item	Macroalga	Tratamentos dietéticos ¹			
	<i>U. lactuca</i>	Controle	UL	ULR	ULE
Energia bruta (kcal/kg matéria seca, MS)	2664	4649	4672	4607	4597
Composição química					
Matéria seca (% alimento)	88,7	89,0	89,2	89,3	89,4
Proteína bruta (% MS)	28,2	23,3	23,1	22,8	23,3
Gordura bruta (% MS)	2,85	8,8	9,0	9,8	10,3
Cinzas (% MS)	31,7	6,6	8,8	8,8	8,9
Perfil de diterpenos (µg/g)					
α-Tocoferol	79,3	253,8	254,2	233,9	224,1
α-Tocotrienol	n.d	5,00	3,26	3,56	2,77
β-Tocoferol	n.d	0,723	0,767	0,736	0,723
γ-Tocoferol + β-tocotrienol	n.d	5,47	4,15	4,18	3,57
γ-Tocotrienol	n.d	6,18	4,09	4,54	3,46
δ-Tocoferol	n.d	0,961	0,689	0,729	0,701
β-caroteno	170	1,28	33,7	28,3	28,4

¹ Controle, dieta à base de milho e soja; UL, dieta controle com 15% de *U. lactuca*; ULR, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,005% de mistura enzimática comercial; ULE, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,01% de ulvano liase recombinante. ² Co-eluído com α -tocoferol. ³Clorofilas e carotenoides. n.d.—não detectado.



Figura 4. Aves no experimento.

4.3. Peroxidação lipídica da carne

Para analisar o potencial antioxidante da carne de frango (coxa e peito) determinou-se a produção das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O procedimento iniciou-se pesando 1,5 g de carne descongelada para 2 tubos de 50 ml (em duplicado), e adicionando 1 ml de solução aquosa EDTA (ácido etilenodiamina tetra-acético) 0,3%, 5 ml de *n*-hexano com BHT (hidroxitolueno butilado) (0.8%) e 8 ml de TCA (2,4,6- tricloroanisol) 5%. Logo depois homogeneizou-se a suspensão com Ultra-turrax, sobre o gelo, durante 3 ciclos de 10 segundos a 19000-20000 rpm. Depois centrifugou-se durante 5 minutos a 1400 g. O passo seguinte foi retirar a fase superior (*n*-hexano) e filtrar o volume restante por um filtro de papel de 125 mm (Whatman, VWR, Portugal) para um tubo graduado, e depois ajustar o volume do filtrado a 10 ml com solução de TCA 5%. Em seguida, retirou-se 3 ml da mistura anterior para um tubo de vidro (16 ml) e adicionou-se 2 ml de TBA (ácido tiobarbitúrico) 0.8%, ao que se seguiu a incubação da mistura no banho a 70 °C durante 30 min, com agitação. Posteriormente, arrefeceu-se os tubos em água durante 5 minutos e mediu-se as absorvências a 532 nm contra o branco (mistura de 3 ml TCA 5% + 2 ml TBA 0.8%). Os

resultados foram apresentados em mg de malondialdeído (mg MDA/kg de carne). A análise foi repetida após 6 dias da amostra ter ficado armazenada em ambiente refrigerado a 4 °C.

4.4. Determinação de vitaminas lipossolúveis e colesterol na carne

A separação, identificação e quantificação dos homólogos da vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis) e do colesterol total foi realizada no peito e coxa, segundo Prates *et al.* (2006). O método iniciou-se com a saponificação da carne fresca (0,750g) moída, em duplicado, em tubos de vidro de 16 ml. Para tal, adicionou-se 0,20 g de ácido ascórbico (Sigma-Aldrich, MI, EUA) e 5,5 ml de solução de saponificação (55% etanol absoluto com 11% hidróxido de potássio e 45% de água destilada). Depois agitou-se os tubos de imediato para não haver aglomeração dos fragmentos da amostra. Em seguir, substituiu-se o ar dos tubos por azoto e agitou-se em vórtex os tubos tapados até dissolver completamente o ácido ascórbico. Para ocorrer a reação, os tubos foram colocados em banho-maria a 80 °C por 15 minutos com agitação a 200 rpm. Logo após, arrefeceu-se os tubos em água fria e adicionou-se 1,5 ml de água destilada e 3 ml de n-hexano, após agitou-se intensamente no vórtex por 2 minutos e centrifugou a 2500 rpm durante 5 minutos (Figura 5). Posteriormente aspirou-se a fase superior de n-hexano de cada amostra para novos tubos contendo sulfato de sódio anidro (0,3 g). Finalmente, filtrou-se uma alíquota das fases aspiradas, por filtro de seringa hidrofóbico 0,45 µm (Sigma-Aldrich, MI, EUA), para frascos âmbar de 1,5 ml para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

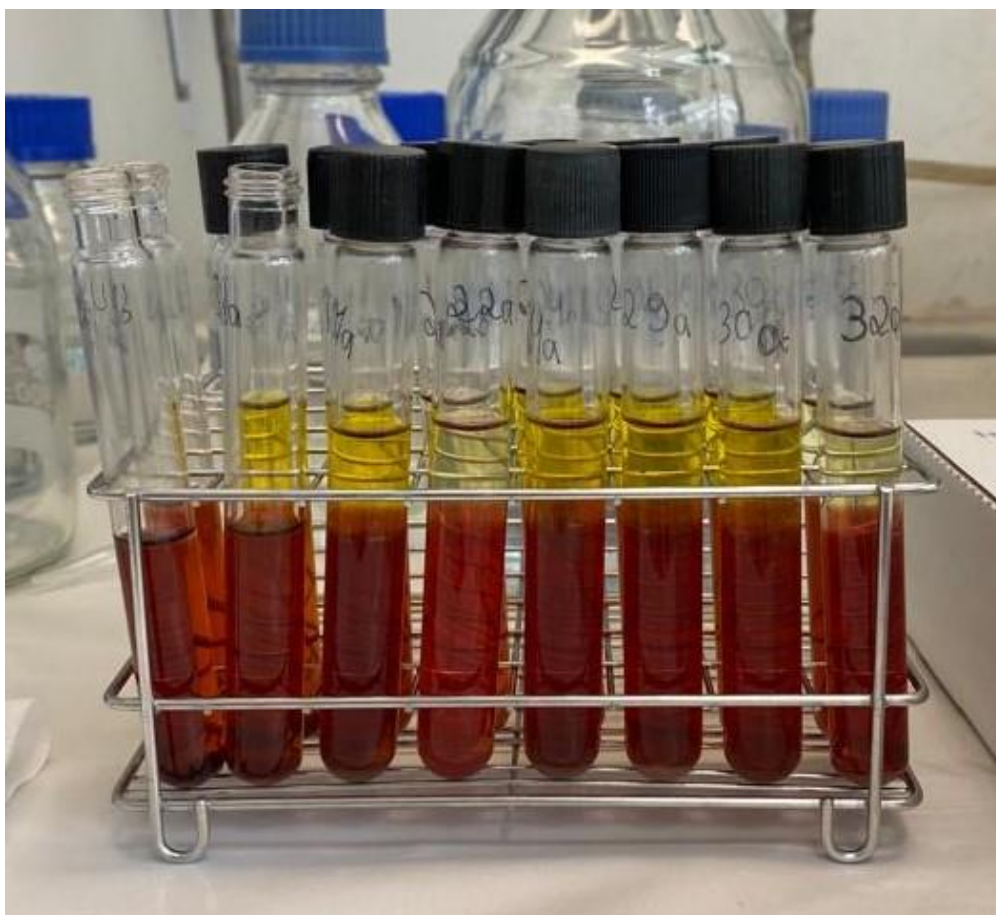


Figura 5. Tubos de ensaio, aspirou-se a fase superior de n-hexano de cada amostra para novos tubos contendo sulfato de sódio anidro.

4.5. Análise estatística

A análise estatística foi efetuada recorrendo ao General Linear Models (GLM) do programa estatístico SAS (Institute Inc., Cary NC), exceto os TBARS que foram analisados com o procedimento MIXED do SAS para considerar as medidas repetidas no tempo e, portanto, são observações dependentes. O teste PDIFF ajustado ao método Tukey Kramer foi usado para múltiplas comparações das médias. Para as variáveis da qualidade da carne, e para o peso corporal e ganho médio diário, considerou-se como fator fixo, o tratamento, e como unidade experimental, o animal. Para os parâmetros produtivos, ingestão e índice de conversão, o mesmo fator fixo foi considerado, mas a unidade experimental foi a gaiola. Para os TBARS, tanto o tratamento quanto o tempo foram fatores fixos, o animal foi um termo aleatório e a interação entre tratamento e tempo foi incluída no modelo. Os níveis foram significativos quando $\alpha = 0,05$. Foram apresentados os resultados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM).

5. RESULTADOS

5.1. Desempenho Produtivo

A Tabela 4 mostra a consequência das dietas experimentais no desempenho de crescimento de frango de carne. No ganho médio diário o crescimento diminuiu significativamente ($p = 0,018$) de 15,6 g/d em frangos alimentados com dieta ULE em relação aos alimentos com controle. No peso corporal final seguiu a mesmatendência, diminuiu 13,6% nos animais que ingeriram a dieta ULE ($p = 0,016$) em comparação com o controle, isso pode ser observado pelo fato de ser menos palatável com a macroalga. Não foram encontradas diferenças nos parâmetros do grupo controle e UL, ULC. Ainda, os valores da taxa de conversão alimentar não foram diferentes ($p = 0,172$) entre os tratamentos.

A mortalidade total observada entre os dias 21 e 35 foi de 2,5% (dados não mostrados) e incluíram um e dois frangos alimentados com dietas UL e ULC, respectivamente, que apresentaram diarreia grave.

Tabela 4. Desempenho de crescimento dos dias 21 a 35 nos frangos alimentados com as dietas experimentais. (n = 10)

Item	Tratamentos Dietéticos ¹					
	Controle	UL	ULR	ULE	EPM ²	<i>p-Valor</i>
Desempenho de crescimento						
Peso corporal inicial (g)	767	748	754	727	26,4	0,763
Peso corporal final (g)	1763 ^a	1621 ^{ab}	1679 ^{ab}	1523 ^b	5,.9	0,016
Ganho médio diário (g/d)	77,4 ^a	68,1 ^{ab}	72,1 ^{ab}	61,8 ^b	3,38	0,018
Consumo médio diário de ração (g/gaiola)	371	310	318	320	16,5	0,049
Índice de conversão alimentar	1,68	1,72	1,63	1,78	0,047	0,172

1 Controle, dieta milho-soja; UL, dieta controle com 15% de *U. lactuca*; ULR, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,005% de mistura enzimática comercial; ULE, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,01% de ulvano liase recombinante.

2 EPM, erro padrão da média. ^{a, b}, Diferenças significativas são indicadas por diferentes sobrescritos dentro de uma linha (p < 0,05)

5.2. Estabilidade oxidativa da carne

A influência das dietas experimentais na estabilidade oxidativa do peito e da coxa está apresentada na Tabela 5. Os valores de malondialdeído (MDA) tiveram um aumento (p < 0,050) entre os dias zero e seis para o controle, dieta UL e ULE na coxa, apesar da peroxidação lipídica do peito não ter sido afetada (p > 0,050) pelos tratamentos contendo a microalga.

Na Tabela 5 teor de TBA não foram afetados pelos tratamentos. A estabilidade oxidativa das carnes de peito e coxa após 0 e 6 dias de armazenamento a 4 °C não foi afetada significativamente. Contudo constatou-se uma maior suscetibilidade da carne da coxa à oxidação, o que pode resultar de um conteúdo lipídico elevado. A peroxidação lipídica do peito não foi afetada pelos tratamentos dietéticos, embora tenha havido aumento dos valores de MDA entre o dia zero e o dia seis para o controle.

Tabela 5. Resultados das dietas experimentais na peroxidação lipídica, medida como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), da carne (n=10).

Tratamentos			Controlo (CON)	<i>U. lactuca</i> (UL)	<i>U. lactuca</i> + Rovabio (ULR)	<i>U. lactuca</i> + Enzima (ULE)	EPM ²	<i>p</i> -Valor
Coxa	Malondialdeído, mg/kg	Dia 0	0,147x	0,235x	0,134	0,123x	0,037	0,150
		Dia 6	0,763y	0,672y	0,376	0,753y	0,145	0,258
Peito		Dia 0	0,160x	0,198	0,146	0,174	0,0239	0,464
		Dia 6	0,751y	0,510	0,439	0,456	0,1114	0,189

1 Controlo, dieta milho-soja; UL, dieta controle com 15% de *U. lactuca*; ULC, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,005% de mistura enzimática comercial; ULE, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,01% de ulvano liase recombinante. 2 EPM, erro padrão da média. O x e y indica a diferença significativa na mesma coluna. ($p < 0,05$).

5.3. Teor da carne em homólogos da vitamina E, caroteno e colesterol

A Tabela 6 apresenta o efeito das dietas experimentais no teor de homólogos da vitamina E e colesterol na coxa e peito dos frangos. Considerando o teor em colesterol, não se observaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as dietas para ambas as carnes.

Os teores de α -tocoferol e de γ -tocoferol no peito e na coxa foram maiores no grupo controle do que nas dietas contendo algas ($p < 0,001$). Contrariamente, os teores de β -caroteno na coxa foram maiores nas dietas contendo a microalga (0.15 *versus* 0.078 $\mu\text{g/g}$). Contudo, não se observou efeito significativo ($p = 0.258$) das dietas experimentais na concentração de β -caroteno no peito.

Além disso, o conteúdo de α - e γ -tocoferóis diminuiu com os tratamentos contendo *U. lactuca*, em comparação com o controle. As concentrações de α - e β -caroteno não diferiram entre tratamentos, mas um aumento de carotenoides totais foi encontrado com macroalgas, em relação ao controle.

Tabela 6. Resultados da dieta de vitaminas lipossolúveis, β -caroteno e colesterol na carne de coxa e peito do frango ($n = 10$)

		Controle (CON)	<i>U. lactuca</i> (UL)	<i>U. lactuca</i> + Rovabio (ULR)	<i>U. lactuca</i> + Enzima (ULE)	EPM ²	<i>p</i> -Valor
Coxa	α -Tocoferol (mg/g)	7,77 ^a	5,86 ^b	5,88 ^b	6,72 ^b	0,274	<0,001
	γ -Tocoferol(μ g/g)	0,0969 ^a	0,0724 ^b	0,0711 ^b	0,0765 ^b	0,0039	<0,001
	β -caroteno (μ g/g)	0,078 ^b	0,139 ^a	0,161 ^a	0,152 ^a	0,0118	<0,001
	Colesterol (mg/g)	0,908	0,897	0,790	0,905	0,0388	0,111
Peito	α -Tocopherol (μ g/g)	7,73 ^a	4,67 ^b	4,59 ^b	4,49 ^b	0,257	<0,001
	γ -Tocopherol (μ g/g)	0,0814 ^a	0,0631 ^b	0,0600 ^b	0,0565 ^b	0,00274	<0,001
	β -caroteno ¹ (μ g/g)	n.d.	0,0650	0,0550	0,0570	0,00443	0,258
	Colesterol(mg/g)	0,962	0,847	0,853	0,842	0,0509	0,297

Controle, dieta milho-soja; UL, dieta controle com 15% de *U. lactuca*; ULC, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,005% de mistura enzimática comercial; ULE, dieta controle com 15% de *U. lactuca* e 0,01% de ulvano liase recombinante. 2 EPM, erro padrão da média. Diferenças significativas são indicadas por diferentes sobrescritos dentro e entre as linhas ($p < 0,05$). n.d.—não detetado.

¹ A análise estatística dos dados só foi realizada entre os tratamentos com a macroalga.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a eficiência de um alto nível de incorporação da *U. lactuca*, com e sem suplementação enzimática, nas dietas de frango de carne para melhorar a sua digestão e absorção, e, conseqüentemente, o crescimento. Pretendeu-se ainda, promover a deposição de compostos bioativos na carne, incluindo antioxidantes, como a vitamina E e o β -caroteno, melhorando, desta forma, a qualidade da carne de frango e o seu potencial antioxidante. Os resultados demonstraram que a inclusão de 15% de *U. lactuca* na dieta de frango de carne em substituição parcial ao farelo de soja e ao milho não afetou consideravelmente o desempenho do crescimento dos frangos, apesar de uma diminuição no peso corporal final e no ganho médio diário com a dieta experimental contendo a ulvano liase

recombinante em comparação com o controle. No entanto, a dieta ULE não teve impacto no índice de conversão alimentar. Assim sendo, tanto a enzima recombinante como a comercial tiveram ligeira influência no desempenho animal. Resultados controversos sobre a influência da alimentação de frangos de carne com *Ulva* sp. no crescimento animal têm sido descritos na literatura. Enquanto Abudabos *et al.* (2013) não relataram nenhum efeito no ganho de peso e índice de conversão alimentar dos pintos de carne ao alimentá-los com 3% de *Ulva* sp., Ventura *et al.* (1994) descreveram uma diminuição da taxa de crescimento dos frangos de carne com o aumento da dose da macroalga na dieta (10 a 30%) associada a uma redução da ingestão, devido a uma menor palatibilidade da dieta contendo a macroalga. Os últimos autores sugerem que o conteúdo em polissacáridos indigestíveis seria o responsável pela diminuição do desempenho produtivo dos animais. Nos estudos de Costa *et al.* (2022) e Pestana *et al.* (2020) reportaram que 15% da macroalga, *Laminaria digitata*, ou da microalga, *Arthrospira platensis*, com ou sem adição de enzimas exógenas, prejudicou o crescimento dos frangos. Os resultados refutam a hipótese inicialmente colocada de que a incorporação de macroalga aumentaria o potencial antioxidante da carne. De facto, as concentrações de homólogos da vitamina E, como os compostos antioxidantes α -tocoferol e γ -tocoferol, diminuíram nos tratamentos com a macroalga em comparação com o controle. Para além disso, os níveis de malondialdeído (TBARS) na carne não se alteraram com a incorporação da *U. lactuca*, o que indica a incapacidade da alga em diminuir a sua peroxidação lipídica. A redução do teor em α -tocoferol e γ -tocoferol na carne foi também reportado por Pestana *et al.* (2020), aquando da alimentação de frangos com 15% de *A. platensis*. De forma semelhante, a diminuição dos teores de vitamina E foi verificada por Jesus *et al.* (2020) na coxa de frangos alimentados com dietas contendo 10% de *Chlorella vulgaris*, não protegendo assim a carne da oxidação lipídica. Este aspeto é relevante, na medida em que o aumento α -tocoferol no organismo das aves provoca um aumento da resistência ao estresse oxidativo imposto por vários entressores externos, como previamente demonstrado no sémen de galos alimentados com dietas suplementadas com vitamina E (Surai *et al.* 2019). Em outros animais monogástricos, ou seja, nos suínos, a suplementação de vitamina E acima da exigência nutricional (10, 100 ou 200 mg/kg de ração) foi eficaz na redução da oxidação lipídica da carne (Buckley *et al.* 1995). A diminuição da vitamina E pode então levar a uma diminuição da resistência dos animais ao estresse oxidativo e da oxidação lipídica da carne. Assim sendo, pode ser importante fortificação as dietas dos frangos com vitamina E, visto que as quantidades desta são variáveis com as condições de cultivo e também com o processamento (ex.: secagem) a que as macroalgas estão sujeitas (Costa *et al.* 2021).

Considerando o conteúdo do antioxidante β -caroteno na carne de frango, verificou-se, no presente estudo, o seu aumento com a incorporação da *U. lactuca*. Este resultado vai ao encontro do aumento de carotenoides totais na carne de frangos do mesmo ensaio,

previamente relatado (Costa *et al.* 2022), e de outros ensaios com 15% de *L. digitata* (Costa *et al.* 2022) ou de *A. platensis* (Pestana *et al.* 2020). No presente estudo, a *U. lactuca* apresentava 170 µg/g de β-caroteno, o que explica a riqueza em carotenoides da carne dos frangos alimentados com a macroalga. Estes valores estão concordantes com os reportados na literatura (Costa *et al.* 2021), embora variem de acordo com as condições de cultivo da *U. lactuca* (Burg *et al.* 2013), dependendo se a macroalga é proveniente de produção em ambiente semi-controlado de alto mar, tal como a macroalga aqui utilizada, leitos flutuantes com fornecimento de água rica em nutrientes, jangadas (offshore) ou desertos costeiros (terrestre) (Costa *et al.* 2021). Como tal, a *U. lactuca* pode apresentar quantidade relativamente elevadas de carotenoides (até 163 mg/kg). Embora macroalgas vermelhas, como a *Porphyra* sp. (408 mg/kg), e microalgas (ex.: *A. platensis*, 5040 mg/kg) possam conter concentrações maiores destes pigmentos do que a *U. lactuca*, outras macroalgas podem conter concentrações menores, como a *Undaria pinnatifida* (13.0 mg/kg) e a *Laminaria* sp. (29.9 mg/kg) (Costa *et al.* 2021). Os carotenoides são responsáveis por pigmentação em animais, plantas e microrganismos, mas têm um papel crucial em sistemas biológicos. Estes compostos estão em abundância no ambiente marinho, com diversidade de estruturas muito maior do que no ambiente terrestre (Galasso *et al.* 2017). Os pigmentos são variados e divididos em duas classes químicas: os carotenos (ex.: licopeno e o α e β- caroteno), que são compostos de hidrogénio e carbono, e as xantofilas (ex.: astaxantina, fucoxantina e luteína), que são constituídas por hidrogénio, carbono e oxigénio (Galasso *et al.* 2017; Young and Lowe 2018). O elemento central dos carotenoides é uma cadeia de polieno (“espinha dorsal”) que consiste numa série de ligações C=C conjugadas, formando moléculas com importantes propriedades pigmentantes. A sua função principal é a de antioxidante, atuando de forma eficaz na proteção das células, devido à interação com espécies reativas ao oxigénio, como os radicais livres do oxigénio singleto. Os carotenoides são afetados pelo ambiente ao seu redor estando presentes em maior quantidade em algas com sistemas fotossintéticos, incluindo as microalgas, estando o β-caroteno localizado em centros de reações com função protetora. Estes compostos são benéficos para a saúde humana reduzindo certas doenças como cancro e doenças cardiovasculares, principalmente devido às propriedades antioxidantes. Os carotenoides podem mudar o comportamento pro-oxidante para o antioxidante em função da concentração de oxigénio. Num estudo prévio, o β-caroteno agiu como antioxidante eficaz quando submetido a estresse oxidativo (Young e Lowe 2018).

No presente estudo, os teores de malondialdeído (TBARS) nas carnes do peito e na coxa dos frangos, que traduzem a peroxidação lipídica, aumentaram do dia 0 para o dia 6, mas não se alteraram com as 4 dietas experimentais. Estes resultados estão de acordo com o reportado por Costa *et al.* (2022) e Pestana *et al.* (2020), aquando da incorporação de 15% de *L. digitata* e *Spirulina*, respetivamente. No entanto, segundo Costa *et al.* (2022), os valores

de malondialdeído foram numericamente mais baixos na carne de frangos alimentados com dietas contendo *L. digitata* (0,346 mg/kg) do que com o controle (0,702 mg/kg), o que indica um ligeiro potencial da macroalga em melhorar a estabilidade oxidativa da carne. Costa *et al.* (2022) sugeriu que o aumento em ácidos gordos polinsaturados na carne de frangos alimentados com *U. lactuca* predispôs a carne para a oxidação, mas o simultâneo aumento em carotenoides com uma ação antioxidante fez com que não ocorresse alteração nos níveis de malondialdeído.

No presente estudo, não houve alteração significativa do colesterol na carne do peito e da coxa dos frangos. Tal resultado está de acordo com Costa *et al.* (2022) após a utilização de 15% de *L. digitata*, suplementada ou não com carboidratos, na dieta de frangos. Contrariamente, Abudabos *et al.* (2013) observou menores concentrações de colesterol na carne de frangos que receberam 1% e 3% de *U. lactuca* do que a dieta controle. Segundo Carvalho *et al.* (2009), o efeito hipocolesterolémico da macroalga pode dever-se ao seu alto teor em fibra em oposição ao teor em gordura, a qual, como reportado por Abudabos *et al.* (2013), é essencialmente rica em ácidos gordos polinsaturados (ômega-3 e -6). No estudo efetuado por Alagan *et al.* (2020), os níveis de colesterol sérico entre os dias 30º e 60º do ensaio experimental diminuíram nas galinhas alimentadas com 3% de *U. lactuca*, comparativamente ao controle. A redução significativa nos níveis de colesterol e triglicerídeos mostrou que a carne produzida após suplementação da macroalga resultaria na produção de carne magra que poderia ser consumível para pacientes com distúrbios cardíacos e condições hipertensivas. Noutro estudo realizado por Cañedo-Castro *et al.* (2019), a utilização de *Ulva rigida* como aditivo alimentar em proporções de 2,4 e 6 % causou uma diminuição dos níveis séricos de colesterol total e triglicerídeos relativamente ao controle, realçando, assim, os efeitos pré-bióticos da macroalga. As variações sazonais na composição nutricional da *U. lactuca*, as quais são dependentes das condições de cultivo, podem explicar a discrepância de resultados encontrados na literatura.

Portanto, pesquisas adicionais são necessárias para determinar a incorporação ideal de *U. lactuca* e os benefícios potenciais da suplementação enzimática em dietas para animais monogástricos.

7. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo permitiu concluir que a inclusão de 15% de *U. lactuca* na dieta de frangos de carne não impactou negativamente o desempenho produtivo dos animais. Notavelmente, observou-se um enriquecimento de carotenoides antioxidantes, em particular o β -caroteno, na carne. Esta descoberta ressalta o valor nutricional da *U. lactuca* como fonte de compostos bioativos e o seu potencial para melhorar o perfil nutricional da carne de frango. No entanto, a pesquisa revelou que o potencial antioxidante global da carne não foi significativamente alterado, e os níveis de vitamina E apresentaram uma redução com a inclusão da macroalga. Este resultado sugere uma necessidade de fortificação da dieta com vitamina E para equilibrar a composição nutricional da carne. A suplementação com misturas enzimáticas comerciais e ulvano liase não demonstrou impacto substancial na maioria dos parâmetros avaliados. Contudo, a adição de ulvano liase resultou numa diminuição do desempenho produtivo, o que pode ser atribuído à liberação de polissacáridos indigestíveis da biomassa de *U. lactuca*. Este achado indica a necessidade de investigar níveis de inclusão de *U. lactuca* inferiores a 15% para otimizar os benefícios nutricionais sem comprometer o crescimento dos animais.

Por último, a incorporação de *U. lactuca* na dieta de frangos de carne emergiu como uma estratégia promissora para o desenvolvimento de práticas de pecuária mais sustentáveis. Esta abordagem pode oferecer benefícios tanto em termos de eficiência produtiva quanto na melhoria da qualidade nutricional da carne, alinhando-se assim com os objetivos de uma produção animal mais sustentável e responsável.

Futuras investigações serão necessárias para avaliar os efeitos das carboidrases sobre a digestibilidade dos nutrientes em frangos de carne. Tais estudos contribuirão para uma melhor compreensão de como as enzimas podem otimizar a utilização de macroalgas na alimentação animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA. 2023. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual.
- Abudabos AM, Okab AB, Aljumaah RS, Samara EM, Abdoun KA, Al-haidary AA, 2013. Nutritional Value of Green Seaweed (*Ulva Lactuca*) for Broiler Chickens. Italian Journal Of Animal Science, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 28, jan. 2013. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2013.e28>.
- Alagan VT, Vatsala RN, Sagadevan I, Subbiah V, Ragothaman V, 2020. Effect of dietary supplementation of seaweed (*Ulva lactuca*) and *Azolla* on growth performance, haematological and serum biochemical parameters of Aseel chicken. Beni-Suef University Journal of Basic And Applied Sciences, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-9, 26 nov. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s43088-020-00087-3>
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 17th edition. Association of Official Analytical Chemists Ed., Rockville, MD, USA:AOAC International; 2000.
- Barroeta, AC 2007. Nutritive value of poultry meat: relationship between vitamin e and pufa. World'S Poultry Science Journal, [S.L.], v. 63, n. 2, p. 277-284, 1 jun. 2007. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1017/s0043933907001468>.
- Bragagnolo N. 2001. Aspectos Comparativos entre carnes segundo a composição de ácidos graxos e teor de colesterol. In: 2 A conferência internacional virtual sobre qualidade de carne suína. Aspectos comparativos entre carnes segundo a composição de ácidos graxos e teor de colesterol. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2001. p. 393-402
- Brito JMS; Coelho RMD, 2021 Características microbiológicas da carne de frango: uma revisão narrativa / microbiological characteristics of chicken meat. Brazilian Journal Of Development, [S.L.], v. 7, n. 6, p. 62781-62795, 24 jun. 2021. South Florida Publishing LLC. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv7n6-586>.
- Buckley DJ, Morrissey PA, GRAY J I, 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. Journal of Animal Science, [S.L.], v. 73, n. 10, p. 3122-3130, jan. 1995. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.2527/1995.73103122x>
- Burg SWK, Stuiver M, Veenstra FA, Bikker P, López-Contreras A, Palstra AP, Broeze J, Jansen H, Jak R, Gerritsen A, 2013. A Triple P review of the feasibility of sustainable offshore seaweed production in the North Sea. Report 13-077 ISBN 978-90-8615-652-8
- Cañedo-castro B, Piñón-gimate A, Carrillo S, Ramos D, Casas-valdez M, 2019. Prebiotic effect of *Ulva rigida* meal on the intestinal integrity and serum cholesterol and triglyceride content in broilers. Journal Of Applied Phycology, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 3265-3273, 21 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-019-01785-x>.
- Carvalho AFU, Portela MCC, Sousa MB, Martins FS, Rocha FC, Farias DF, Feitosa JPA, 2009. Physiological and physico-chemical characterization of dietary fibre from the green seaweed *Ulva fasciata* Delile. Brazilian Journal Of Biology, [S.L.], v. 69, n. 3, p. 969-977, ago. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-69842009000400028>.

Castañeda, Maria del Pilar & Hirschler, E & Sams, Alan. (2005). Skin pigmentation evaluation in broilers fed natural and synthetic pigments. *Poultry science*. 84. 143-7. 10.1093/ps/84.1.143.

Costa M, Cardoso C, Afonso C, Bandarra, NM, Prates JAM, 2021. Current knowledge and future perspectives of the use of seaweeds for livestock production and meat quality: a systematic review. *Journal Of Animal Physiology And Animal Nutrition*, [S.L.], v. 105, n. 6, p. 1075-1102, 4 mar. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jpn.13509>.

Costa M M, Pio LB, Bule P, Cardoso VA, Duarte M, Alfaia CM, Coelho DF, Brás JA, Fontes CMGA, Prates J A M, 2022. Recalcitrant cell wall of *Ulva lactuca* seaweed is degraded by a single ulvan lyase from family 25 of polysaccharide lyases. *Animal Nutrition*, [S.L.], v. 9, p.184,192,jun.2022.ElsevierBV.<http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2022.01.004>.2022.01.004.

Costa MM, Pestana JM, Osório D, Alfaia CM, Martins CF, Mourato M, Gueifão S, Rego AM, Coelho I, Coelho D. Effect of Dietary *Laminaria digitata* with Carbohydrases on Broiler Production Performance and Meat Quality, Lipid Profile, and Mineral Composition. *Animals*, [S.L.], v. 12, n. 8, p. 1007-1029, 13 abr. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ani12081007>.

Costa MM, Pestana, JM, Carvalho P, Alfaia CM, Martins CF, Carvalho D, Mourato M, Gueifão S, Delgado I, Coelho, I. Effect on broiler production performance and meat quality of feeding *Ulva lactuca* supplemented with carbohydrases. *animals*, [S.L.], v. 12, n. 13, p. 1720-1739, 2 jul. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ani12131720>.

Coudert. E, Baéza E, Berri C. 2020. Use of algae in poultry production: a review, *World's Poultry Science Journal*, 76:4, 767-786, DOI: 10.1080/00439339.2020.1830012. <https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1830012>.

Dominguez H. 2019. *Ulva lactuca*, A Source of Troubles and Potential Riches. Tese (Doutorado) - Curso de Faculty Of Science, Department Of Chemical Engineering, Faculty Of Science, Campus Ourense, University Of Vigo, As Lagoas, Galicia, 2019.

Eismann, A. I., Reis, R. P., da Silva, A. F., & Cavalcanti, D. N. (2020). *Ulva* spp. carotenoids: responses to environmental conditions. *Algal Research*, 48, <https://doi.org/10.1016/J.Algal.2020.101916>

Fernandes V O P. 2015. Discovering novel Carbohydrate-Active Enzymes in the cellulosome of anaerobic bacteria. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2015.

Food Agricultural Organization, 2021. Meat. In agricultural Outlook. FAO. Roma. FAO. p163. cap, 6.

Galasso C, Corinaldesi C, Sansone C, 2017. Carotenoids from marine organisms: Biological functions and industrial applications. *Antioxidants* 2017, 6, 96. [CrossRef] [PubMed]

Ganeco AG. 2016. Características Qualitativas da carne de frango de carne proveniente de diferentes sistemas de produção. Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Campus de Jaboticabal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, 2016.

Harnedy PA, FitzGerald RJ, 2011. Bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalgae. *J Phycol* 47:218–232.

Harnedy PA, Fitzgerald RJ, 2011. bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalga. *Journal Of Phycology*, [S.L.], v. 47, n. 2, p. 218-232, 21 mar. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.00969.x>.

Holdt S, Kraan S, 2011. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *J Appl Phycol* 23:543–597.

Jesus M A. 2020. Efeito da incorporação de *chlorella vulgaris* na dieta, com e sem suplementação de enzimas exógenas, no valor nutricional da fração lipídica e na estabilidade oxidativa da carne de frango. Tese (Doutorado) - Curso de Mestrado em Segurança Alimentar, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2020.

Kidgell JT, Magnusson M, Nys R, Glasson CRK, 2019. Ulvan: a systematic review of extraction, composition and function. *Algal Research*, [S.L.], v. 39, n. [], p. 1-20, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2019.101422>.

Lahaye M, Robic A, 2007. Structure and Functional Properties of Ulvan, a Polysaccharide from Green Seaweeds. *Biomacromolecules*, [S.L.], v. 8, n. 6, p. 1765-1774, 26 abr. 2007. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/bm061185q>.

Lucio, BSV, Hernández-domínguez EM, Villa-garcía M, Díaz-godínez G, Mandujano-gonzalez V, Mendoza-mendoza B, Álvarez-cervantes J, 2021. Exogenous Enzymes as Zootechnical Additives in Animal Feed: a review. *Catalysts*, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 1-21, 15 jul. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/catal11070851>.

Machlin, L. 1991. Vitamin E. In: *Handbook of Vitamins*. 2 ed. New York: Marcel Dekker. Chapter 1, (pp. 99-144).

Madeira MS, Cardoso C, Lopes PA, Coelho D, Afonso C, Bandarra NM, Prates JAM. 2017. Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: a review. *Livestock Science*, [S.L.], v. 205, p. 111-121, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.09.020>.

Mendes AA, Komiyama C M, 2011. Estratégias de manejo de frangos de corte visando qualidade de carcaça e carne. In: *Revista Brasileira de Zootecnia.*, v. 40, p. 352-357, 2011.

Mota CSC. 2018. Avaliação do potencial de utilização de microalgas como alimento alternativo na alimentação de animais de produção. Tese (Doutorado) - Curso de Mestrado em Engenharia Agronômica, Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do Território, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2018.

Oddy VH, Harper GS, Greenwood PL, McDonagh MB, 2001. Nutritional and developmental effects on the intrinsic properties of muscles as they relate to the eating quality of beef. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41: 921-942.

Ognjanović, B I. 2003. Protective influence of vitamin e on antioxidant defense system in the blood of rats treated with cadmium. Tese (Doutorado) - Curso de Institute Of Physiology, Institute Of Physiology, Academy Of Sciences Of The Czech Republic, Czech Republic, Prague, 2003.

Paiva PB, 2014. Tabela de Composição Química dos Alimentos. Disponível em: <https://tabnut.dis.epm.br/alimento/05027/frango-figado-todas-especies-cru>. Acesso em: 5 out. 2023.

Palmquist, D.L. 2009. Omega-3 Fatty Acids in Metabolism, Health, and Nutrition and for Modified Animal Product Foods. The Professional Animal Scientist, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 207-249, jun. 2009. American Registry of Professional Animal Scientists. [http://dx.doi.org/10.15232/s1080-7446\(15\)30713-0](http://dx.doi.org/10.15232/s1080-7446(15)30713-0).

Pestana JM, Puerta B, Santos H, Madeira MS, Alfaia CM, Lopes PA, Pinto RMA, Lemos JPC, Fontes CMGA, Lordelo MM, 2020. Impact of dietary incorporation of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and exogenous enzymes on broiler performance, carcass traits, and meat quality. Poultry Science, [S.L.], v. 99, n. 5, p. 2519-2532, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.069>.

Pestana JM, Alfaia C M, Ribeiro DM, Costa MM, Carvalho DFP, Martins CF, Alves VMD, Lemos JPC, Mourato M, Delgado I, 2023. Enhancing meat quality of weaned piglets with the dietary incorporation of *Ulva lactuca* and carbohydrases supplementation. Meat Science, [S.L.], v. 205, p. 109306, nov. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109306>.

Santos HMMLM 2019. Valorização nutricional da carne de frangos alimentados com dietas contendo *Arthrospira platensis* e aditivadas com enzimas exógenas. Tese (Doutorado) - Curso de Mestrado em Segurança Alimentar, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa.

Statista, 2023. Portugal broiler chicken production by month, 2023. Página inicial. Disponível em: <<https://www.statista.com/statistics/1328780/portugal-broiler-chicken-production-by-month/>>. Acesso em: 05 de jun. de 2023

Surai PF, Kochish II, Romanov, MN, Griffin DK, Nutritional modulation of the antioxidant capacities in poultry: the case of vitamin e. Poultry Science, [S.L.], v. 98, n. 9, p. 4030-4041, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pez072>.

Ventura JIR, Castañón JM, 1994. McNab, Nutritional value of seaweed (*Ulva rigida*) for poultry, Animal Feed Science and Technology, Volume 49, Issues 1–2, 1994, Pages 87–92, ISSN 0377-8401.

Ventura MR, Castanon JIR, McNab JM, 1994. Nutritional value of seaweed (*Ulva rigida*) for poultry. Anim. Feed Sci. Technol. 1994, 49, 87–92. [CrossRef]

Young A, Lowe G, 2018. Carotenoids—Antioxidant Properties. Antioxidants, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 28, 11 fev. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox7020028>.

ZATTI, Kyla Meagan et al. Full replacement of fish oil with algae oil in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) – Debottlenecking omega 3. Aquaculture, [S.L.], v. 574, p. 739653, set. 2023. Elsevier BV.