

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Tese

Influência da cúrcuma, páprica, urucum e cantaxantina em dietas contendo trigo ou milho para poedeiras na qualidade de ovos frescos e armazenados

Diciane Zeni Giehl

Pelotas, 2024

Diciane Zeni Giehl

Influência da cúrcuma, páprica, urucum e cantaxantina em dietas contendo trigo ou milho para poedeiras na qualidade de ovos frescos e armazenados

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciência Animal, na área de concentração: Produção de Não Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Victor Fernando Büttow Roll
Coorientador: Pesq. Dr. Everton Luís Krabbe

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

G454i Giehl, Diciane Zeni

Influência da cúrcuma, páprica, urucum e cantaxantina em dietas contendo trigo ou milho para poedeiras na qualidade de ovos frescos e armazenados [recurso eletrônico] / Diciane Zeni Giehl ; Victor Fernando Büttow Roll, orientador ; Everton Luís Krabbe, coorientador. — Pelotas, 2024.

99 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Antioxidante. 2. Cor da gema. 3. Pigmentantes naturais. 4. TBARS. 5. Vida de prateleira. I. Roll, Victor Fernando Büttow, orient. II. Krabbe, Everton Luís, coorient. III. Título.

CDD 636.5085

Diciane Zeni Giehl

Influência da cúrcuma, páprica, urucum e cantaxantina em dietas contendo trigo ou milho para poedeiras na qualidade de ovos frescos e armazenados

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Ciência Animal, pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 26 de fevereiro de 2024

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Victor Fernando Büttow Roll (Orientador)
Doutor em Produção Animal pela Universidade de Zaragoza

Prof. Ph.D. Fernando Rutz
Ph.D. em Nutrição Animal pela *University of Kentucky*

Prof. Dr. Gilberto D'ávila Vargas
Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Jerri Teixeira Zanusso
Doutor em *Sciences Agronomiques* pela *Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse*

Dra. Juliana Klug Nunes
Doutora em Nutrição Animal pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus pela vida e proteção.

Ao professor e orientador Dr. Victor Fernando Büttow Roll por sempre estar disponível e por toda dedicação e paciência. Ter dividido essa pesquisa com você fez com que tudo se tornasse mais fácil!

À Universidade Federal de Pelotas, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Suínos e Aves que, em conjunto, possibilitaram a realização deste estudo.

Aos pesquisadores Dr. Everton Luís Krabbe e Dr. Valdir Silveira de Ávila pela oportunidade e confiança.

À Granja Gross - ao Senhor Leocir e Senhora Salete Gross - pelo espaço para a execução do experimento e toda ajuda prestada.

Aos funcionários da Embrapa que auxiliaram nesta pesquisa, em especial ao Idair Piccinin, Claudir Ritter e a Vicky Kawski, que estiveram presentes durante as atividades de campo e análises laboratoriais.

À colega de pós-graduação Débora Sarturi que participou das incansáveis quebras de ovos e dividiu comigo a estadia em Concórdia.

À banca avaliadora pelos questionamentos e considerações, em especial ao professor Ph.D. Fernando Rutz por todas as aulas e conversas sobre avicultura e afins. Te desejo vida longa, pois és fundamental na nossa área!

Aos meus pais José Eugênio e Elaine Kieling Giehl por tudo que já me ensinaram. Durante a pandemia pude recuperar todos os anos que estive longe. Estar perto de vocês durante essa etapa foi um presente maravilhoso! Amo vocês!

À minha irmã Dionéia por sempre me incentivar na realização dos meus sonhos e minha sobrinha Thalia Luiza que me faz acreditar num mundo melhor. Tive a sorte grande quando a minha irmã mais velha me deu uma irmã mais nova! Vocês são especiais e fundamentais na minha vida!

Ao meu namorado Matheus Bierhalz por ser meu parceiro de vida e me encorajar nos momentos difíceis. Que juntos possamos alcançar tudo que desejamos!

Já se passaram dez anos desde o primeiro dia de aula da faculdade - o início desse sonho. Nunca estive sozinha, conheci lugares e pessoas que contribuíram para que tudo isso acontecesse. Algumas foram fundamentais nas minhas decisões. Recebi muita ajuda, tive apoio e fiz amizades. Sou muito grata a quem dividiu conhecimento comigo, e não só acadêmico. Sempre disse que a universidade proporciona muito mais que títulos.

Não foi fácil, mas com o apoio de vocês foi possível! Obrigada!

*“Conheça todas as teorias. Domine todas as técnicas.
Mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.”*

Carl Gustav Jung

Resumo

GIEHL, Diciane Zeni. **Influência da cúrcuma, páprica, urucum e cantaxantina em dietas contendo trigo ou milho para poedeiras na qualidade de ovos frescos e armazenados**. Orientador: Victor Fernando Büttow Roll. 2024. 99 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil, 2024.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a suplementação de doses crescentes de pigmentos naturais e sintético em dietas contendo trigo ou milho para poedeiras e influência na qualidade externa e interna de ovos frescos e armazenados. Na primeira fase do estudo, 820 poedeiras da linhagem *ISA Brown*, com 78 semanas de idade e criadas em sistema *cage-free* sobre cama, foram submetidas a 20 tratamentos com suplementação de cúrcuma, páprica, urucum (0,1%, 0,2%, 0,3% e 0,4%) ou cantaxantina (0,003%, 0,006%, 0,009% e 0,012%) em dietas à base de trigo e farelo de soja, e cantaxantina (0,003% e 0,006%) em dietas à base de milho e farelo de soja, além de dois grupos controle sem adição de pigmentos. A cor da gema, a unidade *Haugh* e o índice de gema foram avaliados em 0, 3, 7, 14, 21 e 28 dias após a suplementação. A inclusão de pigmentos naturais em dietas contendo trigo reduziu a cor da gema, sem afetar a unidade *Haugh* e o índice de gema. A suplementação com cantaxantina, independentemente da dieta, aumentou a cor da gema e não afetou a unidade *Haugh* e o índice de gema. Cúrcuma, páprica e urucum até o nível de 0,4% em dietas à base de trigo e farelo de soja, não possuem capacidade de manter ou intensificar a cor da gema. Na segunda fase do estudo, um total de 1600 ovos foi armazenado em temperaturas de 5°C ou 25°C por até 40 dias. Análises de qualidade interna e externa e peroxidação das gemas foram realizadas após 1, 10, 20, 30 e 40 dias de armazenamento. As variáveis de peso do ovo, unidade *Haugh* e resistência da casca correlacionaram-se negativamente com a temperatura de armazenamento a 25°C. A suplementação com cantaxantina em dietas de trigo ou milho teve efeito negativo para a temperatura mais elevada. Doses mais altas dos pigmentos páprica e cúrcuma resultaram em redução nos níveis de malondialdeído, indicando que estes pigmentos podem apresentar melhor capacidade antioxidante em ovos, contribuindo assim para uma melhor qualidade e vida útil do produto final.

Palavras-chave: Antioxidante. Cor da gema. Pigmentantes naturais. TBARS. Vida de prateleira.

Abstract

GIEHL, Diciane Zeni. **Influence of turmeric, paprika, annatto and canthaxanthin in diets containing wheat or corn for laying hens on the quality of fresh and stored eggs**. Advisor: Victor Fernando Büttow Roll. 2024. 99 f. Thesis (Doctor in Animal Science) – Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil, 2024.

The objective of this research was to evaluate the supplementation of increasing doses of natural and synthetic pigments in wheat- or corn-based diets for laying hens and their influence on the external and internal quality of fresh and stored eggs. In the first phase of the study, 820 *ISA Brown* laying hens, aged 78 weeks and raised in a cage-free system on litter, were subjected to 20 treatments with supplementation of turmeric, paprika, annatto (0.1%, 0.2%, 0.3% and 0.4%) or canthaxanthin (0.003% 0.006% 0.009% and 0.012%) in wheat- and soybean meal-based diets, and canthaxanthin (0.003% and 0.006%) in corn- and soybean meal-based diets, along with two control groups without pigment addition. The yolk color, *Haugh* unit and yolk index were evaluated at 0, 3, 7, 14, 21, and 28 days after supplementation. The inclusion of natural pigments in wheat-based diets reduced yolk color intensity, without affecting the *Haugh* unit and yolk index. Supplementation with canthaxanthin, regardless of the diet, increased yolk color intensity and did not affect the *Haugh* unit and yolk index. Turmeric, paprika and annatto up to the level of 0.4% in wheat- and soybean meal-based diets do not have the capacity to maintain or intensify yolk color. In the second phase of the study, a total of 1600 eggs were stored at temperatures of 5°C or 25°C for up to 40 days. Internal and external quality analyses and yolk peroxidation were performed after 1, 10, 20, 30 and 40 days of storage. The variables of egg weight, *Haugh* unit and shell strength correlated negatively with the storage temperature at 25°C. Canthaxanthin supplementation in wheat- or corn-based diets had a negative effect at the higher temperature. Higher doses of paprika and turmeric resulted in a reduction in malondialdehyde levels, indicating that these pigments may have better antioxidant capacity in eggs, thus contributing to better quality and shelf life of the final product.

Keywords: Antioxidant. Yolk color. Natural pigments. TBARS. Shelf life.

Lista de Figuras

Figura 1	Poedeira <i>ISA Brown</i>	17
Figura 2	Regiões tritícolas e produção de trigo no Brasil.....	21
Figura 3	Leque colorimétrico da Roche®	24
Figura 4	Extrato de páprica.....	26
Figura 5	Extrato de cúrcuma.....	27
Figura 6	Extrato de urucum.....	28
<i>Figure 1</i>	<i>Representation of the clusters on the map induced by the first two main components in the evaluation of 20 experimental diets based on corn/wheat containing or not egg yolk pigmentants using storage temperature as a supplementary categorical variable.....</i>	<i>77</i>
<i>Figure 2</i>	<i>Representation of the clusters on the map induced by the first two main components in the evaluation of 20 experimental diets based on corn/wheat containing or not yolk pigmentants in eggs stored at 5°C and 25°C.....</i>	<i>78</i>
<i>Figure 3</i>	<i>Graph of the dissimilarity resulting from the analysis of 20 treatments in eggs stored at 5°C and 25°C based on six response variables (egg weight, shell strength, Haugh unit, yolk index, shell thickness, yolk color).....</i>	<i>79</i>
<i>Figure 4</i>	<i>Descriptive statistics of egg weight, eggshell strength, Haugh unit, yolk index, eggshell thickness and yolk color according to experimental diets and storage temperature</i>	<i>80</i>
<i>Figure 5</i>	<i>Estimates of MDA (mg/g of egg yolk) in relation to egg storage days, temperature, day and dose according to each pigment and diet used.....</i>	<i>81</i>

Lista de Tabelas

Tabela 1	Composição bromatológica aproximada do milho em grão em comparação com os principais cereais de inverno.....	17
Tabela 2	Classificação do valor da Unidade <i>Haugh</i> (UH) para a qualidade de ovos.....	19
Table 1	<i>Ingredients and nutritional composition of the experimental diets</i>	55
Table 2	<i>Yolk color in commercial laying hens receiving corn and wheat-based diets with supplementation levels of natural and synthetic pigments.....</i>	56
Table 3	<i>Graphs and equations for yolk color using different doses of turmeric, paprika, annatto, and canthaxanthin and time of supplementation in corn and wheat-based diets using nonlinear quadratic models with plateau.....</i>	57
Table 4	<i>Haugh unit in commercial laying hens receiving corn and wheat-based diets with supplementation levels of natural and synthetic pigments.....</i>	58
Table 5	<i>Yolk index in commercial laying hens receiving corn and wheat-based diets with supplementation levels of natural and synthetic pigments.....</i>	59

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
RS	Rio Grande do Sul
SC	Santa Catarina
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Species</i>
TEP	<i>Tetramethoxypropane</i>
UH	Unidade Haugh
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

Sumário

1 Introdução geral	13
2 Revisão bibliográfica	16
2.1 Evolução do mercado de ovos	16
2.2 Poedeira <i>ISA Brown</i>	17
2.3 Nutrição de poedeiras comerciais	18
2.4 Principais fontes energéticas.....	19
2.5 Milho.....	20
2.6 Trigo	20
2.6.1 Classificação e tipificação do trigo	22
2.6.2 O trigo no futuro	23
2.7 Adição de pigmentantes.....	23
2.7.1 Páprica	26
2.7.2 Cúrcuma.....	27
2.7.3 Urucum.....	28
2.7.4 Cantaxantina	29
2.8 O ovo e sua composição	29
2.8.1 Qualidade dos ovos.....	30
2.8.2 Pigmentação da gema.....	33
2.8.3 Oxidação lipídica e capacidade antioxidante.....	34
2.9 Vida de prateleira	35
3 Capítulo 1 - Qualidade interna de ovos de poedeiras alimentadas com dietas de trigo ou milho e suplementadas com pigmentos naturais e cantaxantina sintética.....	37
Introduction.....	39
Material and methods	41
Results and discussion.....	44
Conclusions.....	49
References	50

4 Capítulo 2 - Pigmentantes naturais e cantaxantina sintética em dietas de trigo ou milho para poedeiras e influência na qualidade de ovos armazenados a 5°C ou 25°C.....	60
Introduction.....	63
Material and methods	65
Results and discussion.....	68
Conclusions.....	72
References	74
5 Conclusões gerais	82
Referências	84

1 Introdução geral

A avicultura é um dos setores da produção animal que mais cresce no Brasil. O país se destaca mundialmente como grande produtor e exportador de carne de frango. Além da produção de carne, o Brasil possui considerável participação no mercado de ovos, devido as excelentes linhagens de poedeiras comerciais (ABPA, 2023a). A oferta de proteína animal barata com alto valor nutricional é um dos fatores responsáveis pelo desenvolvimento da atividade (ABADI et al., 2018).

Cada vez mais o mercado consumidor é o grande responsável pelas mudanças nos modelos e exigências de produção. Em relação às poedeiras, o foco principal é sobre a questão do bem-estar animal, com maior interesse nos ovos produzidos de aves livres de gaiolas (SILVA; BUSS, 2019). Enquanto para o critério de seleção do produto, a coloração da gema é considerada um importante indicador de qualidade (HERNANDEZ; BLANCH, 2000; SEEMANN, 2000; ZIGGERS, 2000), visto que a crença popular sempre relacionou a criação de galinhas caipiras com a produção de ovos com maior pigmentação de gema (GARCIA et al., 2002).

As gemas dos ovos são boas fontes dos carotenoides luteína e zeaxantina, que são potentes antioxidantes e de grande interesse na alimentação humana, o que torna o ovo um alimento funcional (MAZZUCO, 2008). Oferecer aos consumidores um produto com maior qualidade e benefícios à saúde, abre portas para um mercado competitivo (PAULINO et al., 2022). A coloração e o grau de pigmentação da gema é resultado da absorção e da deposição dos carotenoides presentes nos alimentos (GARCIA et al., 2002; BREITHAUPT, 2007). Esses carotenoides são classificados em xantofilas e em carotenos (GOODWIN, 1965; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Como as aves não são capazes de sintetizar os carotenoides, a sua inclusão na dieta, seja de fontes naturais ou sintéticas, se torna

necessária quando o objetivo for a intensificação da cor da gema (NELSON; BAPTIST, 1968; SEEMANN, 2000; BREITHAUPT, 2007).

O milho, ingrediente energético mais utilizado na composição das dietas para poedeiras, também apresenta potencial pigmentante e é o responsável pela maior parte da coloração da gema quando nenhuma outra fonte é utilizada (FASSANI; ABREU; SILVEIRA, 2019). A fim de atender a demanda na produção de ração animal, o trigo tem se tornado uma alternativa ao milho, devido aos seus valores nutricionais serem próximos e por estar disponível em maior volume quando comparado aos outros cereais de inverno (BERTOL et al., 2019). Os estudos estão voltados para a sua inclusão parcial ou total na dieta de aves. Entretanto, a deficiência de carotenoides no trigo consequentemente afeta a coloração das gemas, e a fim de evitar a sua despigmentação, as dietas para poedeiras devem incluir aditivos pigmentantes (FASSANI; ABREU; SILVEIRA, 2019).

É importante ressaltar que os teores de carotenoides presentes nas dietas variam por uma série de fatores, que vão desde a escolha do tipo de cereal utilizado, além do clima e das condições ambientais durante a colheita, processamento e armazenamento do grão (BERARDO et al., 2004; RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004). Toda essa variabilidade, consequentemente, não ocasiona uma padronização na pigmentação da gema ao longo do ano e o produto disponível no mercado afeta a aceitação dos consumidores mais exigentes (PAULINO et al., 2022).

As dietas à base de milho e farelo de soja, consideradas padrão para a alimentação animal, não geram alta intensidade de coloração de gema, geralmente alcançam valores até sete no leque colorimétrico da Roche® (KIJPARKORN; PLAIMAST; WANGSOONOEN, 2010; DSM, 2014). Em situações em que as dietas são constituídas sem o milho, a pigmentação natural será ainda menor (FASSANI; ABREU; SILVEIRA, 2019). Dessa forma, para intensificar e manter a homogeneidade da cor da gema durante todo o ano se faz necessária à inclusão de pigmentantes – sintéticos ou naturais - nas dietas das aves (LOPES et al., 2023).

Entende-se por pigmentante ou corante, os aditivos alimentares que conferem, intensificam ou restauram a cor de um alimento. Em sistemas de criação caipira, a Legislação Brasileira estabelece que o uso de pigmentantes para ovos seja de origem natural (ABNT, 2019). Os pigmentantes naturais mais utilizados nas rações de poedeiras são o extrato de páprica (*Capsicum annum*), cúrcuma (*Curcuma longa*), extrato de flor de calêndula (*Tagetes erecta*) e de urucum (*Bixa*

orellana). Enquanto o pigmento sintético de referência é a cantaxantina (MOURA et al., 2011; VALENTIM et al., 2019).

A utilização de pigmentantes naturais requer maiores níveis de inclusão nas dietas quando comparado com os pigmentantes sintéticos, uma vez que seu poder de pigmentação é inferior (GARCIA et al., 2002; GARCIA et al., 2015). Porém, a crescente tendência por produtos de origem natural enfatiza os estudos sobre a capacidade de pigmentação dos aditivos naturais para atender às exigências de mercado e determinar um nível de inclusão adequado e satisfatório, sem afetar a saúde das aves (VALENTIM et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2021).

Além de ótimos pigmentantes, os carotenoides desempenham ação antioxidante (MANACH et al., 2004; AMBROSIO; CAMPOS; FARO, 2006). Portanto, a sua inclusão na nutrição de poedeiras, além de melhorar a intensificação na cor da gema do ovo, também pode melhorar a qualidade do produto final, durante o armazenamento (YESILBAG et al., 2013). No Brasil existem potenciais produtos para esta finalidade, com destaque para os derivados de páprica, cúrcuma e urucum. Todos aparentam ser uma boa opção, contudo existe carência de informações quanto a sua dosagem e sobre o efeito na qualidade dos ovos em dietas à base de trigo para poedeiras (FASSANI; ABREU; SILVEIRA, 2019).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de doses crescentes de pigmentantes em dietas contendo trigo ou milho para poedeiras sobre a qualidade externa e interna de ovos frescos e armazenados.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Evolução do mercado de ovos

A produção e o consumo de ovos comerciais colocou o Brasil em evidência em todo o mundo. Segundo os últimos dados disponibilizados pela Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), o consumo de ovos no Brasil foi de 241 unidades por habitante ao ano, sendo superior a média mundial - 230 unidades habitante/ano (ABPA, 2023a).

Embora a produção brasileira represente apenas 10% da produção mundial e apesar das exportações ainda serem inferiores a 1% em relação à produção nacional, o foco é se consolidar entre as lideranças no mercado de ovos (ABPA, 2023a). No ano de 2021, o Brasil atingiu o seu recorde de produção, chegando a quase 55 bilhões de unidades (ABPA, 2022). Para 2024 é esperada a obtenção de um novo recorde na produção de ovos – alcançar 56 bilhões de unidades produzidas, com um consumo *per capita* em torno de 260 unidades, o que daria uma média de cinco ovos consumidos semanalmente por brasileiro (ABPA, 2023b). A mudança no perfil alimentar, a versatilidade do ovo e o aumento do preço de outras proteínas impulsionaram o crescimento da cadeia avícola. Logo, o mercado consumidor é responsável pelos avanços do setor, bem como nas exigências de produção e nos critérios de seleção do produto (GARCIA et al., 2015; VALENTIM et al., 2020).

A avicultura de postura teve um grande progresso nos últimos anos, permitindo que a produção de ovos ficasse cada vez mais eficiente. Em relação às poedeiras, os índices zootécnicos comprovam a excelente capacidade produtiva dessas aves, principalmente pelos avanços do melhoramento genético das

linhagens comerciais associado ao atendimento das exigências nutricionais em cada fase (UNDERWOOD; ANDREWS; PHUNG, 2021). Existem diferentes espécies de linhagens comerciais, basicamente classificadas em linhagens que produzem ovos brancos ou de cor (avermelhados).

2.2 Poedeira *ISA Brown*

Dentre as linhagens de aves de postura, a *ISA Brown* é reconhecida mundialmente pela sua eficiência na produção de ovos e por se adaptar bem a diferentes climas e sistemas de manejo. É uma linhagem de genética francesa considerada a líder mundial na produção de ovos vermelhos, produzindo até 500 ovos de alta qualidade em seu ciclo produtivo (HENDRIX GENETICS, 2022).

Segundo o Manual da Linhagem, a persistência na produção também é um diferencial desta poedeira, apresentando ciclo de postura mais longo (18-100 semanas) quando comparada com outras linhagens comerciais. Todas suas qualidades e vantagens a tornaram a melhor poedeira marrom, sendo uma grande responsável pelo desenvolvimento do setor avícola por todo o mundo (HENDRIX GENETICS, 2022). A poedeira *ISA Brown* (Figura 1) apresenta excelente conversão alimentar, o que tornou a sua linhagem a mais eficiente no mercado de ovos de cor.

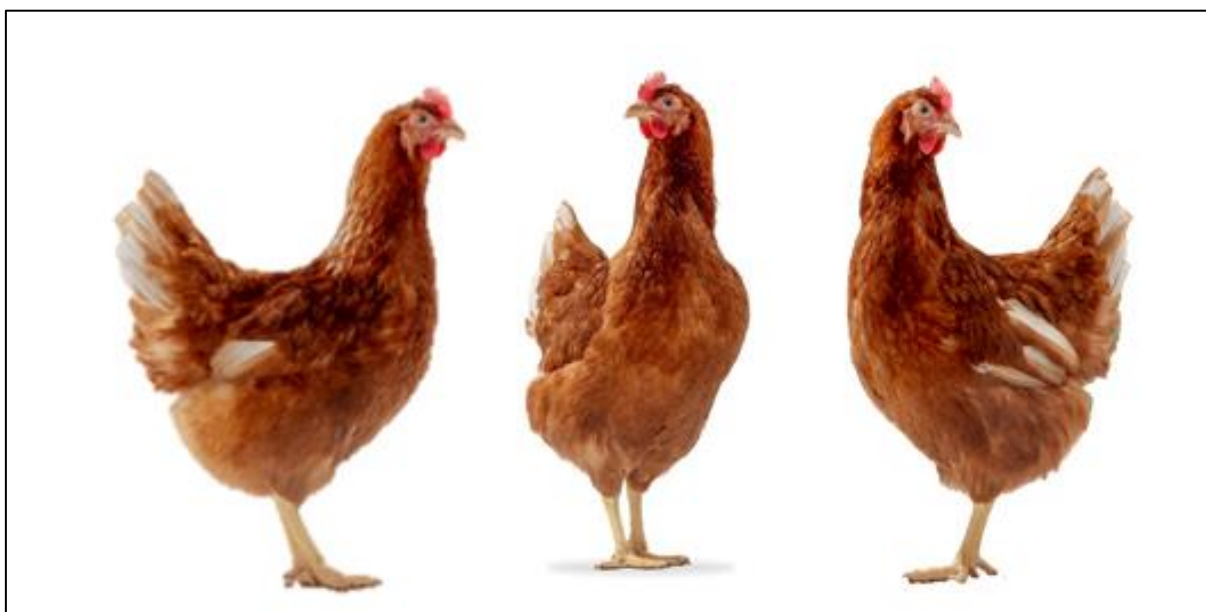


Figura 1 – Poedeira *ISA Brown*.

Fonte: Adaptada – HENDRIX GENETICS, 2022.

O conhecimento da genética é fundamental para acompanhar o desenvolvimento da ave, a fim de oferecer as exigências nutricionais e as condições ambientais necessárias para expressar o máximo de seu potencial genético. Em poedeiras, a deficiência nos níveis nutricionais das dietas, bem como manejos e ambiência inadequados, afeta negativamente a produção de ovos (LEDUR et al., 2011).

2.3 Nutrição de poedeiras comerciais

Dentro do sistema produtivo animal, a alimentação é responsável pelo maior investimento nos custos totais na criação de aves (COSTA; FIGUEIREDO; LIMA, 2012). O preço dos ingredientes é um dos fatores decisivos para a sua inclusão na formulação das dietas e apesar do milho e da soja serem atualmente os principais grãos utilizados avicultura brasileira, cada vez mais são realizadas pesquisas em busca de alternativas alimentares (ABBAS, 2021; ALSHELMANI et al., 2021). Recentemente, devido ao *déficit* de milho no Brasil, os estados do Sul precisaram importar o grão de outros estados e países (CONAB, 2024a). A alta concentração de produção intensiva de aves e suínos nessa região, além da exclusividade do milho na nutrição destes animais, geraram muitas despesas no setor, principalmente pelo alto preço do grão durante o período da pandemia pelo *Covid-19*.

A fim de reduzir a dependência total do milho e gerar novas alternativas no sistema produtivo principalmente na nutrição de monogástricos, o Governo de Santa Catarina criou o Programa de Incentivo ao Plantio de Cereais de Inverno, com suporte técnico e financeiro (ANTUNES; CERON, 2020). Em parceria, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) têm desenvolvido estudos avaliando a utilização de cereais de inverno - com destaque para o trigo - que podem ser incluídos nas rações animais em substituição aos ingredientes padrão, sem afetar negativamente a produtividade (ANTUNES; CARDOSO, 2019).

2.4 Principais fontes energéticas

O milho e o trigo são as principais fontes energéticas usadas em dietas de aves em todo o mundo (CUFADAR; YILDIR; OLGUN, 2010). Por muito tempo, o trigo foi o cereal mais produzido mundialmente, tendo o seu consumo baseado na alimentação humana, associada à alimentação animal. Já o milho, que devido aos avanços na produção animal, sobretudo no setor de suínos e aves, passou a ser o principal grão produzido no mundo (COÊLHO, 2021).

No Brasil, o milho é o ingrediente mais utilizado na alimentação de poedeiras, adicionado em média 65% nas formulações das dietas de não ruminantes e representa até 40% dos gastos da nutrição destes animais (MANTOVANI, 2000). Enquanto que em outros países, principalmente na Europa, Canadá e Austrália, o trigo é o ingrediente base, com inclusão superior a 60% nas rações de aves (BRUM, 2000; BLAIR, 2008).

Segundo o Boletim de Safras da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), em relação à produção de grãos no Brasil, enquanto que o milho apresentou queda, o trigo se destacou com aumento na área cultivada (+12,7%) e encerrou a safra de 2023 como a segunda maior em produção da série histórica (CONAB, 2024b). Até recentemente, o trigo não era muito utilizado em rações para animais no país, mas tem se destacado como ingrediente alternativo ao milho, seja por sua capacidade nutricional, pelo preço competitivo ou por ser o cereal de inverno disponível em maior volume (BERTOL et al., 2019).

Na Tabela 1 são apresentados os valores nutricionais do milho em comparação aos principais cereais de inverno produzidos no Brasil. A quantidade de proteína e energia metabolizável permite que o trigo seja uma das opções para a formulação de dietas para aves. No entanto, quando comparado ao milho, apesar de apresentar maior porcentagem de proteína bruta, possui quantidade deficiente de aminoácidos essenciais e por isso, em substituições superiores a 30% é necessário realizar o ajuste na matriz nutricional da dieta, conforme as exigências de cada fase das aves (ROSTAGNO et al., 2017).

Tabela 1 - Composição bromatológica aproximada do milho em grão em comparação com os principais cereais de inverno.

Cereal	Proteína bruta (%)	Energia metabolizável (Kcal/kg)
Milho	8,8	3454
Trigo	11,5	3039
Triguilho	13,6	2783
Triticale	12,3	2968
Aveia	15,2	2976
Cevada	15,2	2701
Sorgo	8,8	3204
Milheto	12,4	3189

Fonte: Adaptado de Rostagno et al., 2017.

2.5 Milho

O milho é tradicionalmente cultivado por todo o mundo e se destaca pela sua acessibilidade e bom valor nutricional, sendo o cereal mais produzido e consumido mundialmente. É amplamente utilizado na nutrição animal, tendo participação crescente na dieta humana e sendo cada vez mais explorado na produção de biocombustíveis (OLIVEIRA; LANG; FERREIRA, 2022).

Além de ser o ingrediente energético mais utilizado na composição das rações para poedeiras no Brasil, o milho também é o responsável pela maior parte da coloração da gema, quando nenhuma outra fonte é utilizada (FASSANI; ABREU; SILVEIRA, 2019). No entanto, a alta no preço do milho nos últimos anos, afetou diretamente os custos com a nutrição animal. Dessa forma, além do interesse em reduzir as despesas relacionadas à alimentação das aves, o trigo surge como alimento substituto e alternativo (BERTOL et al., 2019).

2.6 Trigo

Outro cereal utilizado na alimentação de poedeiras como componente energético é o trigo, embora ainda produzido em menor escala no Brasil. O cultivo desse cereal tem como foco principal o consumo humano, sobretudo na produção de farinhas, mas recentemente vem ganhando espaço na nutrição animal

(ANTUNES; CARDOSO, 2019). O trigo é o segundo grão mais produzido no mundo. Enquanto os Estados Unidos são os maiores exportadores do cereal, o Brasil e o Egito configuram-se como os maiores importadores mundiais de trigo (USDA, 2024). Até 1980, a produção brasileira de trigo estava, exclusivamente, concentrada na Região Sul (STEMPKOWSKI et al., 2022). Desde então o cultivo avançou para a Região Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste (Figura 2).

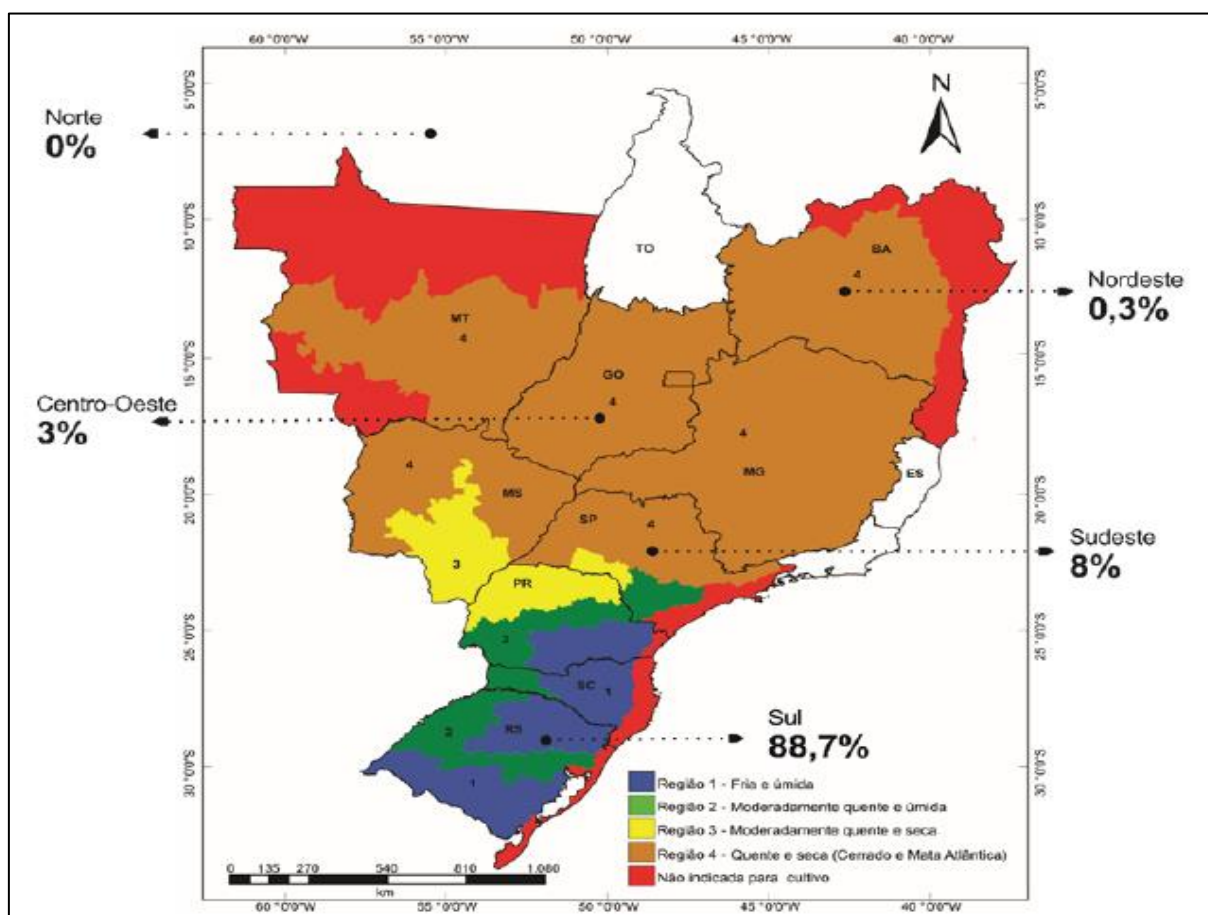


Figura 2 – Regiões tritícolas e produção de trigo no Brasil.

Fonte: Stempkowski et al., 2022.

A região Sul ainda é responsável pela maior parte da produção nacional, sendo o Paraná atualmente o maior produtor de trigo no país, com 44% da produção nacional, seguido do Rio Grande do Sul (33%) e Santa Catarina com quase 12% (IBGE, 2023). Em 2022 ocorreu a maior safra de trigo da história do Brasil, foi produzido 9,5 milhões de toneladas de grãos, volume que ainda não atende a demanda nacional. (CONAB, 2023). Projeções da Embrapa Trigo indicam que, caso a produção de trigo continue crescendo, o Brasil poderá produzir 20 milhões de toneladas até 2030, superando o consumo interno, que atualmente gira em torno de 14 milhões de toneladas do grão (ANTUNES, 2022).

A expansão da triticultura, no Brasil, teve início com a pesquisa e ganhou espaço no campo e na indústria. Através do desenvolvimento de novas cultivares, melhores adaptadas às condições climáticas nacionais, foi possível o aumento da produtividade do cereal e consequentemente, ampliação da área plantada (FONTANELI et al., 2011; MORI, 2016). O trigo, como ingrediente nas rações para suínos e aves, tem destaque nos estudos desenvolvidos pela Embrapa. Durante muitos anos, o foco foi o melhoramento genético, a partir do desenvolvimento de cultivares específicas para a alimentação animal. Recentemente, pesquisadores da Embrapa Trigo (RS) e da Embrapa Suínos e Aves (SC) visam mapear a variabilidade nutricional desse cereal de inverno, levando em consideração as inúmeras cultivares já desenvolvidas (ANTUNES, 2020).

O trigo de alta qualidade pode substituir totalmente o milho na alimentação de aves, mudando a ideia de que apenas o trigo que não atendeu os requisitos para a panificação seja utilizado na nutrição animal (ANTUNES; CARDOSO, 2019). Em resumo, o trigo é uma fonte energética, de menor custo quando comparado ao milho, capaz de exercer um importante papel no crescimento e desenvolvimento dos animais. É uma opção na dieta de aves, recentemente utilizado com maior frequência na alimentação de poedeiras, contribuindo para o desenvolvimento adequado das aves e produção de ovos.

2.6.1 Classificação e tipificação do trigo

Conforme a Legislação Brasileira vigente para o trigo, o grão é dividido em cinco classes: Trigo branco, Trigo pão, Trigo melhorador, Trigo *durum* e Trigo para outros usos - destinados à alimentação animal ou uso industrial (BRASIL, 2001).

Conforme a Instrução Normativa nº 7 de 15 de agosto de 2001, além da classificação, o trigo é também tipificado em função do limite mínimo de peso do hectolitro e dos limites máximos de percentuais de umidade, matérias estranhas e impurezas e de grãos avariados em: Tipo 1, Tipo 2 e Tipo 3, além do Fora de tipo, que não atende nenhum padrão (BRASIL, 2001).

2.6.2 O trigo no futuro

A utilização do trigo como fonte principal de energia nas dietas de aves de especialmente na Europa não é novidade. As mudanças recentes envolvem o cenário brasileiro, onde o grão que era pouco usado na alimentação animal se tornou uma opção com potencial na nutrição de poedeiras. Atualmente, o melhoramento genético, além do desenvolvimento de variedades de trigo específicas para a nutrição animal, trabalha na qualidade nutricional do grão. O objetivo são variedades com maior concentração de proteínas, mas capazes de manter um balanço mais adequado entre os aminoácidos essenciais presentes (ANTUNES; CARDOSO, 2019).

No mercado interno, acredita-se que a demanda pelo grão acompanhará a expansão da produção de suínos e aves, e como os estados do Sul, em especial o Rio Grande do Sul dispõem, no outono e inverno, de imensa área agrícola não utilizada para o plantio de milho, estas áreas serão ocupadas para o cultivo dos cereais de inverno, especialmente o trigo (ANTUNES, 2020). Entretanto, um dos principais entraves na utilização do trigo na dieta de poedeiras é o baixo conteúdo de carotenoides presente no cereal. Assim sendo, dietas à base de trigo devem incluir a suplementação de aditivos pigmentantes na formulação, a fim de evitar a despigmentação das gemas (FASSANI; ABREU; SILVEIRA, 2019).

2.7 Adição de pigmentantes

Os pigmentantes, também chamados de corantes, são definidos como aditivos alimentares que conferem, intensificam ou restauram a cor de um alimento (ABNT, 2019). Além da propriedade pigmentante, possuem capacidade antioxidante e podem atuar como eliminadores de radicais livres, reduzindo assim o risco de câncer e de outras enfermidades (BÖHM et al., 1997; MAOKA et al., 2001). Associado a esses benefícios, o principal motivo para a utilização de pigmentantes em dietas de poedeiras é melhorar a qualidade interna dos ovos, atingindo o nível de pigmentação de gemas exigido pelos consumidores (HENCKEN, 1992; PAPADOPOULOS et al., 2019).

O padrão de avaliação da cor da gema de ovos leva em consideração escores de cores, através do método de escala colorimétrica da Roche® (Figura 3). O leque possui escala com numeração crescente de 1 a 15, sendo o menor valor referente ao amarelo pálido e o maior ao laranja intenso (DSM, 2014). A preferência por ovos com gema alaranjada estimulou os avicultores a incluírem pigmentantes nas rações (HARDER; CANNIATTI-BRAZACA; ARTHUR, 2007).



Figura 3 – Leque colorimétrico da Roche®.
Fonte: DSM, 2014.

A indústria avícola brasileira produz ovos comerciais com coloração média em torno de sete, utilizando dietas padrão à base de milho e farelo de soja, sem a adição de pigmentantes. A partir da suplementação com fontes de carotenoides, o grau de pigmentação será maior (MOURA; MELO; MIRANDA, 2016). Entre os consumidores brasileiros a escolha pela intensidade de coloração da gema varia entre sete e dez enquanto em outros países, principalmente o México e Japão, essa preferência é superior (GALOBART et al., 2004). Para atender essa demanda é necessária a utilização de fontes pigmentantes. Logo, as formulações para poedeiras comerciais podem ser suplementadas com pigmentos - de fontes naturais ou sintéticas - para garantir que além da intensidade de coloração desejada, a gema do ovo tenha padrão de cor ao longo do ciclo de produção da ave (LOPES et al., 2023).

Segundo a Legislação Brasileira, em sistemas de criação tipo caipira apenas o uso de pigmentantes de origem natural é permitido (ABNT, 2019). Para o uso de pigmentantes sintéticos, o Brasil se baseia nas recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) e da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) que proíbe grande parte dos aditivos artificiais nas dietas animais devido aos seus possíveis efeitos tóxicos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004; VALENTIM et al., 2019). Basicamente a principal diferença entre os pigmentos naturais e sintéticos é a sua origem. A maioria dos corantes naturais utilizados na avicultura é oriunda de extratos de origem vegetal (extraídos de partes de plantas), enquanto os sintéticos são desenvolvidos em laboratório – quimicamente (VALENTIM et al., 2019). O uso de pigmentantes naturais exige maiores níveis de inclusão nas dietas quando comparado com os sintéticos, uma vez que seu poder de pigmentação é inferior (GARCIA et al., 2002; GARCIA et al., 2015).

Os carotenoides são classificados em dois grupos: carotenos e xantofilas. Os carotenos são caracterizados pela ausência de hidroxila e são precursores de vitamina A, sendo insignificantes na pigmentação das gemas. As xantofilas contêm hidroxila em sua composição e possuem capacidade pigmentante vermelha e amarela e, por tanto, apresentam maior interesse de utilização na avicultura (CARNEIRO, 2013). Os principais carotenoides que fornecem a cor amarela são a zeaxantina e a luteína, e os para coloração vermelha são a cantaxantina e capsantina (SPASEVSKI et al., 2018). O equilíbrio entre as xantofilas presentes determina a cor final das gemas e por este motivo, as pesquisas tem avaliado a suplementação com diferentes combinações destes carotenoides, visto que a pigmentação da gema, além da quantidade total de pigmentos, também depende da proporção de carotenoides vermelhos e amarelos ingeridos (FARUK; ROOS; CISNEROS-GONZÁLES et al., 2018; MAIA et al., 2022).

As fontes pigmentantes naturais de maior interesse na nutrição de aves são os extratos de páprica (*Capsicum annum*), cúrcuma (*Curcuma longa*), calêndula (*Tagetes erecta*) e de urucum (*Bixa orellana*). Já a cantaxantina é reconhecida como o pigmentante sintético de referência utilizado no setor avícola (MOURA et al., 2011; VALENTIM et al., 2019).

2.7.1 Páprica

O extrato de páprica apresenta coloração vermelha e é obtido através da moagem do pimentão (*Capsicum annuum* L.) maduro e desidratado (Figura 4). O fruto é fonte de carotenoides além de vitamina C, E e provitamina A, com funções antioxidantes, fitogênicas e digestivas (KRINSKY, 2001). As principais xantofilas presentes são a capsantina e a zeaxantina, com capacidade de pigmentação vermelho-alaranjado (TOPUZ; OZDEMIR, 2003; GALOBART et al., 2004).



Figura 4 – Extrato de páprica.
Fonte: Adaptada – Google Imagens, 2023.

A páprica é um dos condimentos mais consumido no mundo e o corante mais utilizado em dietas para aves (GRUBBEN; DENTON, 2004), sendo o principal interesse dos avicultores intensificar a coloração da pele dos frangos (BIAVATTI et al, 2021) e aumentar os níveis de pigmentação da gema dos ovos de poedeiras (FASSANI; ABREU; SILVEIRA, 2019). Dentre os estudos já realizados avaliando ovos de galinhas e codornas, a inclusão de páprica (individual ou em combinação com outra fonte pigmentante), apresentou resultados satisfatórios para a coloração de gema quando comparada com a dieta controle sem adição de carotenoides (SPASEVSKI et al., 2018; MORALECO et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020; SALEH et al., 2021).

2.7.2 Cúrcuma

Historicamente, o rizoma da cúrcuma (*Curcuma longa* L.) foi muito utilizado na medicina asiática, devido às suas propriedades terapêuticas, tais como anti-inflamatória, antimicrobiana e antiviral (GOEL et al., 2008). Também apresenta capacidade antioxidante, exercendo efeitos protetores contra a peroxidação lipídica dos alimentos e por isso, a cúrcuma é utilizada em todo o mundo, principalmente como corante e condimento alimentar (KHAN et al., 2012). O rizoma é a parte de maior importância comercial, visto que é a partir dele que o extrato de cúrcuma é produzido (Figura 5). A curcumina é a principal xantofila presente, com capacidade de pigmentação amarelo-alaranjado (CHATTOPADHYAY et al., 2004).



Figura 5 – Extrato de cúrcuma.
Fonte: Adaptada – Google Imagens, 2023.

Embora a produção de cúrcuma no Brasil seja inexpressiva quando comparada à mundial, é importante destacar o aumento significativo no cultivo e processamento da espécie, com o objetivo de atender a demanda nacional por corantes naturais (FRANCO et al., 2008). Em relação ao uso do extrato de cúrcuma na alimentação animal, visto que o seu efeito pigmentante já seja reconhecido, a maioria dos trabalhos com dietas que visam alimentos alternativos ao milho, se referem ao seu uso em frangos de corte (BOTELHO et al., 2017; BIAVATTI, et al., 2021).

2.7.3 Urucum

O urucum (*Bixa orellana* L.) é um fruto nativo da floresta amazônica, que pode ser encontrado em toda América Central e do Sul. O extrato de urucum (Figura 6) é a principal fonte de corante utilizada no Brasil, produzido a partir da semente (FRANCO et al., 2002). A semente é composta por carotenoides, sendo os mais abundantes a bixina e a norbixina, apresentando uma importante fonte de pigmento vermelho-alaranjado (BRAZ et al., 2007).



Figura 6 – Extrato de urucum.

Fonte: Adaptada – Google Imagens, 2023.

O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores da semente e do extrato de urucum, os quais são utilizados como condimento alimentar e corante na indústria farmacêutica e cosmética, além do seu emprego na nutrição avícola, sendo importante ressaltar que neste último caso atua como aditivo pigmentante, visando à obtenção de gemas com tonalidades mais intensas (FRANCO et al., 2008). Na literatura, diversos estudos avaliaram os efeitos da inclusão (0,5 a 3,0%) do extrato de urucum na ração de poedeiras e constataram o efeito pigmentante nas gemas (HARDER; CANNIATTI-BRAZACA; ARTHUR, 2007; GARCIA et al., 2009; SPADA et al., 2012; GARCIA et al., 2015; NUNES JUNIOR et al., 2020). Devido aos compostos carotenoides presentes em sua composição, o urucum também pode apresentar ação antioxidante, podendo assim preservar o alimento e retardar a sua deterioração, contribuindo para a vida de prateleira dos ovos, por exemplo (LOPES et al., 2011).

2.7.4 Cantaxantina

Embora a cantaxantina ocorra na natureza, em escala comercial é produzida somente de forma sintética, fabricada em laboratório por síntese química ($C_{40}H_{52}O_2$), visto que a quantidade disponível de maneira natural é inviável para extração (CARNEIRO, 2013). É um corante amplamente utilizado na indústria alimentícia e cosmética, além do seu uso como aditivo alimentar, principalmente na dieta de aves e peixes (GARCIA et al., 2002). Segundo Hannibal et al. (2000) a cantaxantina é a xantofila vermelha artificial mais empregada para intensificar a cor da gema de ovos de poedeiras, devido à sua eficácia de pigmentação.

Certamente, se os ovos forem produzidos de acordo com as diretrizes da agricultura colonial ou orgânica, a cantaxantina não poderá ser empregada nestes modelos de criação, devido à proibição do uso de aditivos sintéticos (ABNT, 2019). Alguns dados de pesquisas sugerem que o pigmentante cantaxantina pode afetar negativamente a saúde humana, visto que o seu excesso no organismo causa hipervitaminose (GRASHORN; STEINBERG, 2002; GURBUZ; YASAR; KARAMAN, 2003). Consequentemente, devido à sua nocividade e visto que as fontes naturais são a atual tendência no mercado consumidor de ovos, há um interesse crescente em substituir os pigmentos sintéticos por naturais nos demais sistemas de produção de ovos (VALENTIM et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2021).

2.8 O ovo e sua composição

Os ovos são fontes de proteína de alta qualidade, contêm nutrientes essenciais na forma de selênio, vitaminas B, provitamina A, aminoácidos e ácidos graxos insaturados importantes para a saúde humana (MENDES et al., 2017; TITCOMB et al., 2019). O ovo é também uma excelente fonte de carotenoides, como luteína e zeaxantina (HENCKEN, 1992; BRULC et al., 2013). Visto que o ovo é um alimento perecível, para que os benefícios do produto - nutritivos ou atrelados à saúde - sejam repassados aos consumidores, há a necessidade de conservar a sua qualidade (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2013). Quanto maior o tempo de armazenamento, maior é a perda na qualidade interna e este processo é ainda mais rápido se os ovos forem mantidos em altas temperaturas (PIRES et al., 2021).

A qualidade dos ovos é um dos principais temas pesquisados na avicultura de postura, e é influenciada por diversos fatores, incluindo a nutrição. A idade das aves afeta o tamanho do ovo e a qualidade da casca. Por sua vez, a dieta ofertada possui capacidade de modificar tanto a composição proteica e lipídica, como os compostos presentes na gema (MELO et al., 2015). As condições de armazenamento influenciam na qualidade interna do ovo, pois logo após a postura, os ovos já iniciam o processo de deterioração, devido à presença de poros na casca que realizam a troca gasosa entre a parte externa e interna (VLČKOVÁ et al., 2019).

2.8.1 Qualidade dos ovos

A qualidade do ovo pode ser avaliada externa e internamente e é medida para descrever diferenças na produção de ovos frescos ou a sua deterioração durante o período de armazenamento, conforme as condições empregadas (ALLEONI; ANTUNES, 2001). Contudo, a definição de qualidade dos ovos apresenta diferentes pontos de vista, de acordo com o destino final do produto, sendo distinto para produtores, consumidores e processadores. Em geral, as características da casca, albúmen e gema - que podem ser alteradas em termos de quantidade - são os principais fatores levados em consideração no momento da avaliação (ROSSI; POMPEI, 1995).

Enquanto que para os produtores o peso do ovo e a qualidade da casca são as características mais relevantes, os consumidores e processadores o maior interesse é pela qualidade interna. Já a padronização do produto é importante principalmente quando o ovo é utilizado como matéria-prima na fabricação de outros alimentos (GARCIA et al., 2010). Do ponto de vista do consumidor, a gema é apontada como a principal característica na avaliação da qualidade interna do ovo. Os motivos são a sua coloração e no caso de ovos enriquecidos, pela presença de nutrientes benéficos a saúde (SALEH et al., 2021; PAULINO et al., 2022).

Para a verificação da qualidade externa dos ovos, inicialmente a casca é avaliada, através da sua aparência (visual), resistência (kgf) e espessura (mm), seguida pelo peso do ovo inteiro (g). Para a qualidade interna, avalia-se o albúmen por meio da Unidade *Haugh* (UH), o índice de gema (mm) e a coloração da gema (escala DSM). As análises para mensurar os parâmetros considerados padrão para

a qualidade de ovos podem ser realizadas manualmente ou com a utilização do equipamento *Egg Tester* (DSM, 2014).

A qualidade da casca pode ser influenciada por inúmeros fatores, que vão desde a alimentação, características das aves, até mesmo falhas durante o manejo de coleta e transporte (NASCIMENTO; SALLE, 2003). O equilíbrio entre os íons cálcio e fósforo também é essencial para a formação de uma casca uniforme e resistente (SARCINELLI; VENTURINI; SILVA, 2007). O peso do ovo inteiro serve como avaliação do padrão de postura das aves, ou seja, para comparação com os valores estabelecidos dentro dos manuais de cada linhagem. Também é utilizado em paralelo com a porcentagem de casca, gema e albúmen, pois geneticamente o peso dessas variáveis estão relacionadas (ALBINO; BARRETO, 2003). O ovo vai perdendo peso e, ao mesmo tempo, sua vida útil quanto maior for o período até ser consumido (FEDDERN et al., 2017). Em relação à parte interna, o albúmen representa a porção proteica e a gema a lipídica, onde se encontram as principais vitaminas presentes no ovo (RAMOS, 2008). A qualidade de ambos é reduzida, naturalmente, após a postura da ave, mas condições inadequadas de armazenamento aceleram o processo de deterioração (PIRES et al., 2020).

Mais conhecido como clara, o albúmen é formado por camadas líquidas que circundam a gema e a sua qualidade é avaliada pela transparência, consistência e altura (STADELMAN; COTTERILL, 1977). O parâmetro mais utilizado para a avaliação do albúmen é a unidade *Haugh* (UH), que também é considerada a principal variável de quantificação da qualidade interna. É uma expressão matemática que correlaciona o peso do ovo com a altura do albúmen espesso. Recebe este nome, pois foi Haugh (1937) quem desenvolveu um fator de correção para o peso do ovo e um logaritmo para altura do albúmen. Para serem considerados de alta qualidade (AA), após o cálculo, os ovos devem apresentar UH acima de 72, em valor absoluto (USDA, 2000). Quanto maior o valor da UH, melhor será a qualidade interna dos ovos, conforme indicado na Tabela 2.

Tabela 2 - Classificação do valor da Unidade *Haugh* (UH) para a qualidade de ovos.

Classificação	Valor de UH	Qualidade
AA	Acima de 72	Alta
A	Entre 60 e 71	Boa
B	Entre 59 e 31	Média
C	Abaixo de 30	Baixa

Fonte: Adaptado de USDA, 2000.

Esta classificação é um indicador que relaciona as reações bioquímicas que ocorrem no interior do ovo. Durante o período de armazenamento, ocorre o aumento do pH e deterioração das proteínas, levando diminuição da altura do albúmen (VLČKOVÁ et al., 2019; JI et al., 2020). Quanto maior for a temperatura e o tempo de armazenamento, menores serão os valores de UH (PIRES et al., 2020).

Em relação à gema, a sua qualidade é avaliada principalmente pela sua coloração, mas também pode ser mensurada através do seu índice, que leva em consideração a sua altura e seu diâmetro (mm). O cálculo de índice de gema foi desenvolvido por Sharp e Powell (1930) e aprimorado por Funk (1973). A gema do ovo tende a perder água, com o armazenamento e, conseqüentemente a sua altura diminui, afetando o valor do índice de gema. No ovo fresco, o índice de gema padrão varia de 0,30 a 0,50mm. Quanto maior o índice, melhor será a qualidade interna do ovo (ORDÓNEZ, 2005). Para a cor da gema, vale lembrar que o mercado consumidor brasileiro relaciona tons mais alaranjados com um produto mais saudável nutricionalmente quando comparada aos tons mais claros. A maioria dos consumidores no mundo prefere ovos com gema alaranjada, cujo índice de cor é superior a dez na escala de leque da Roche® (ZIGGERS, 2000). Como a preferência dos consumidores é uma característica que deve ser levada em consideração, a utilização de pigmentos se tornou realidade na formulação das dietas para poedeiras (BITTENCOURT et al. 2019).

2.8.2 Pigmentação da gema

A coloração da gema é resultado da deposição das xantofilas derivadas da alimentação das aves. Os carotenoides são capazes de direcionar a pigmentação para mais clara (amarela) ou mais intensa – laranja ao avermelhado (RAMOS, 2008). O grau de pigmentação irá depender de vários fatores, como a qualidade e concentração de xantofilas do alimento, da composição da ração, das condições de saúde e da capacidade de absorção da ave (GARCIA et al., 2002; SALEH et al., 2021). Segundo Maia et al. (2022), os fatores que influenciam a intensidade da cor das gemas dos ovos podem ser divididos em fatores primários, aqueles que dependem do tipo e concentração dos carotenoides, e fatores secundários, aqueles que dependem do animal. Portanto, é difícil prever com precisão a capacidade de pigmentação desses aditivos.

No caso das poedeiras, que não realizam síntese de carotenoides, a absorção dos pigmentos pela gema do ovo ocorre em conjunto (“de carona”) com os ácidos graxos, visto que os carotenoides são lipossolúveis. Depois de consumidos, são transportados por lipoproteínas e se acumulam em tecidos ricos em gordura, pele, fígado e, conseqüentemente, são depositados na gema do ovo (VINUS et al., 2018). Segundo Salas-Durán et al. (2019), a origem da maioria dos ácidos graxos encontrados na gema do ovo é oriunda do fígado. Existem três formas dos ácidos graxos se incorporarem na gema do ovo: por lipogênese, através da dieta e pela reserva da própria ave. A pigmentação da primeira gema é proveniente totalmente do fígado. A partir do pico de produção das aves, os ácidos graxos que irão compor a gema são oriundos 40% do fígado, 40% do alimento e 20% da reserva. Após o pico, a participação de cada fonte na incorporação na gema é igualada em um terço. O avanço da idade das aves diminui a capacidade de reserva de ácidos graxos e a inclusão de pigmentantes, via dieta, pode compensar essa perda natural (NABER et al., 1985).

A pigmentação da gema ocorre em camadas concêntricas, dividida em duas fases. Primeiro acontece a deposição uniforme de carotenoides amarelos, que formam uma base. A segunda fase é a adição de carotenoides vermelhos, onde ocorre a mudança de amarelo a laranja mais avermelhado (MOURA et al., 2011). A intensidade da pigmentação final é determinada pela proporção da quantidade de pigmentos amarelos e vermelhos (FLETCHER; HALLO RAN, 1983). Diversas

matérias-primas podem ser utilizadas como fonte natural de carotenoides em dietas de aves e a sua inclusão não é importante apenas para pigmentação, mas também pela atividade antioxidante e anticancerígena (MANACH et al., 2004; AMBROSIO; CAMPOS; FARO, 2006; TULI et al., 2015).

2.8.3 Oxidação lipídica e capacidade antioxidante

Os lipídios presentes na gema de ovos comerciais sofrem oxidação durante o período de armazenamento (GIAMPIETRO et al., 2008). A reação de radicais livres com ácidos graxos inicia um processo conhecido em alimentos como peroxidação. Considerando que a gema do ovo apresenta alto conteúdo de ácidos graxos insaturados - que são propensos à oxidação lipídica - a utilização de aditivos antioxidantes na alimentação de poedeiras é uma das opções para assegurar a qualidade interna dos ovos (ROCHA et al., 2013).

A oxidação é uma reação química capaz de produzir radicais livres que no organismo desenvolvem principalmente doenças neurodegenerativas e cardiovasculares (HALLIWELL, 1996). Segundo Silva, Borges e Ferreira (1999), os peróxidos são instáveis e entre os principais produtos gerados pela oxidação lipídica tem-se o malondialdeído (MDA). É através do valor de MDA que a peroxidação dos alimentos é avaliada, por meio do teste de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico, conhecido como TBARS (LIMA; ABDALLA, 2001).

Os antioxidantes são responsáveis pelos mecanismos de defesa do corpo contra patologias associadas ao ataque de radicais livres. Assim, o consumo de produtos suplementados com pigmentantes como por exemplo, os ovos, pode ser positivo na prevenção de doenças degenerativas (VALKO et al., 2007; LOBO et al., 2010). Os efeitos benéficos presentes nos ovos estão ligados à sua qualidade e o mercado consumidor passou a dar maior importância à qualidade dos alimentos. Pesquisadores e a indústria alimentícia passaram a desenvolver produtos enriquecidos, com a inclusão de aditivos capazes de produzir efeitos benéficos à saúde, tanto animal como humana (PAULINO et al., 2022).

Antioxidantes de origem sintética são comumente utilizados em alimentos para adiar a degradação natural e a peroxidação. No entanto, o aumento da demanda por fontes naturais tem fomentado as pesquisas na busca de extratos de

plantas com capacidade antioxidante a fim de estabilizar a ação dos radicais livres (MARINHO et al., 2016; PONZILACQUA; CORASSIN; OLIVEIRA, 2018). Com isso, o objetivo da utilização de aditivos carotenoides na nutrição de poedeiras não é apenas intensificar a cor da gema do ovo, mas melhorar a qualidade do produto final (YESILBAG et al., 2013). Além dos efeitos positivos na saúde humana, a inclusão de pigmentantes, também pode beneficiar o tempo de prateleira do produto (BOU et al., 2001; FREITAS et al., 2011).

2.9 Vida de prateleira

Além das características externas e internas, outro parâmetro importante para a avaliação da qualidade dos ovos se refere à vida de prateleira do produto, que leva em consideração o período e as condições de armazenamento (ORDÓNEZ, 2005). Como citado anteriormente, a perda da qualidade interna do ovo acontece de forma natural e as condições inadequadas de acondicionamento contribuem ainda mais para a oxidação da gema (HAYAT et al., 2014). Somado ao tempo de armazenamento, a temperatura na qual os ovos ficam expostos é outro fator que afeta a qualidade interna (CRUZ; MOTA, 1996). Temperaturas elevadas contribuem para a deterioração do ovo, ao longo do tempo, principalmente em países como o Brasil, onde a ausência de resfriamento dos ovos ocorre porque esse processo não é exigido, apenas sugerido durante o armazenamento doméstico, após a aquisição do produto (ANVISA, 2009).

No Brasil, de maneira geral, o acondicionamento dos ovos para consumo na indústria é realizado em temperatura ambiente e a fim de garantir a qualidade do produto bem como os seus efeitos benéficos à saúde, estratégias para o seu armazenamento devem ser aplicadas pelo setor avícola (SCATOLINI-SILVA et al., 2013; PIRES et al., 2020). Uma das alternativas para prolongar a vida útil do ovo e de seus produtos derivados, sugere que o ideal seria que todos os ovos fossem mantidos refrigerados até o consumo. Nos Estados Unidos, por exemplo, é exigido que os ovos sejam conservados em temperaturas abaixo de 7,2°C em toda a cadeia de abastecimento alimentar (FDA, 2018; USDA, 2019). No entanto a tecnologia resulta em aumento dos custos de produção, o que, por sua vez, eleva o preço do produto final (CARVALHO et al., 2007).

Segundo Oliveira et al. (2020), a qualidade do ovo é perdida mais rapidamente em temperatura ambiente (25°C) do que durante a refrigeração (5°C), o que também afeta seu valor em termos de segurança, nutrição e aplicabilidade. Entre as principais perdas de qualidade, durante o armazenamento dos ovos, pode-se observar diminuição do peso (SARIYEL et al., 2022), juntamente com a redução nos valores de unidade *Haugh* (PIRES et al., 2020) e índice de gema (YÜCEER; CANER, 2014), além do aumento do pH do albúmen e da gema (SANTOS et al., 2009). Portanto, pesquisas com a utilização de aditivos alimentares capazes de reduzir a deterioração dos ovos quando não há possibilidade de fornecer a eles um ambiente frio apresentam relevância no mercado de ovos (EDDIN; IBRAHIM; TAHERGORABI, 2019).

Com base nestas informações, esta pesquisa buscou avaliar a suplementação de pigmentantes naturais e sintético em dietas contendo trigo ou milho para poedeiras comerciais sobre a qualidade de ovos frescos e armazenados. O estudo foi dividido em duas partes, onde o primeiro capítulo teve como objetivo a avaliação da qualidade de ovos frescos com foco para a cor da gema, enquanto o capítulo dois avaliou a qualidade de ovos armazenados em diferentes temperaturas, com maior interesse na capacidade antioxidante dos pigmentantes utilizados.

3 Capítulo 1 - Qualidade interna de ovos de poedeiras alimentadas com dietas de trigo ou milho e suplementadas com pigmentos naturais e cantaxantina sintética

Internal quality of eggs from laying hens fed wheat or corn diets supplemented with natural pigments and synthetic canthaxanthin

Abstract - The objective was to evaluate the supplementation of natural pigments and synthetic pigment in wheat or corn diets for laying hens and its influence on the internal quality of eggs. A total of 820 *ISA Brown* laying hens were subjected to 20 treatments in a completely randomized design, without or with supplementation of turmeric (*Curcuma longa*), paprika (*Capsicum annum*) or annatto (*Bixa orellana*) at four levels (0.1%, 0.2%, 0.3% and 0.4%) or canthaxanthin at four levels (0.003%, 0.006%, 0.009% and 0.012%) in wheat-based diets and soybean meal. Corn-based diets and soybean meal were without or with supplementation of two levels of canthaxanthin (0.003% and 0.006%). Using an *Egg Tester* equipment, yolk color, *Haugh* unit and yolk index were evaluated in fresh eggs at 0, 3, 7, 14, 21 and 28 days after pigment supplementation. The inclusion of natural pigments in wheat-based diets reduced yolk color, without affecting *Haugh* unit and yolk index. Canthaxanthin supplementation, regardless of the diet, had a positive effect on yolk color and did not affect *Haugh* unit and yolk index. Therefore, turmeric, paprika and annatto up to the level of 0.4% cannot replace canthaxanthin in wheat-based diets and soybean meal without compromising the yolk color of commercial laying hens' eggs.

Index terms: Annatto, feed additive, paprika, turmeric, yolk color.

Qualidade interna de ovos de poedeiras alimentadas com dietas de trigo ou milho e suplementadas com pigmentos naturais e cantaxantina sintética

Resumo – Objetivou-se avaliar a suplementação de pigmentantes naturais e pigmento sintético em dietas de trigo ou milho para poedeiras e influência na qualidade interna dos ovos. Ao total 820 poedeiras *ISA Brown* foram submetidas a 20 tratamentos em um delineamento completamente casualizado, sem ou com suplementação de cúrcuma (*Curcuma longa*), páprica (*Capsicum annuum*) ou urucum (*Bixa orellana*) em quatro níveis (0,1%, 0,2%, 0,3% e 0,4%) ou cantaxantina em quatro níveis (0,003%, 0,006, 0,009% e 0,012%) em dietas à base de trigo e farelo de soja. As dietas à base de milho e farelo de soja foram sem ou com a suplementação de dois níveis de cantaxantina (0,003% e 0,006%). Utilizando equipamento *Egg Tester*, foram avaliados a cor da gema, unidade *Haugh* e índice da gema em ovos frescos em 0, 3, 7, 14, 21 e 28 dias após a suplementação com pigmentos. A inclusão de pigmentos naturais em dietas com trigo reduziu a cor da gema, sem afetar a unidade *Haugh* e o índice da gema. A suplementação de cantaxantina, independentemente da dieta, teve um efeito positivo na cor da gema e não afetou a unidade *Haugh* e o índice da gema. Portanto, cúrcuma, páprica e urucum até o nível de 0,4% não podem substituir a cantaxantina em dietas à base de trigo e farelo de soja sem comprometer a cor da gema de ovos de poedeiras comerciais.

Termos para indexação: Urucum, aditivo alimentar, páprica, cúrcuma, cor da gema.

Introduction

From economical point of view, wheat seems to be an attractive corn replacer in poultry nutrition, mainly in periods of corn scarcity. Wheat is suitable for poultry and has comparable energy contents, but slightly less (5-7%) than corn. Wheat is deficient in some amino acids and carotenoid pigments, therefore, in diets for commercial laying hens where corn is replaced by

wheat, pigment supplementation is necessary to avoid discoloration of the egg yolk (Fassani et al., 2019). Pigments can be added to the hens' rations by including synthetic or natural additives, or a combination of them. In the poultry industry, the main purpose of the usage of natural pigments is to intensify the yolk's pigmentation (Papadopoulos et al., 2019).

However, Brazilian legislation establishes that only natural pigments should be used in the colonial egg production system (ABNT, 2019). Moreover, with the recent prohibition of the majority of artificial pigments for laying hens by the FAO/WHO Committee (on which the Brazilian legislation is based), the search for natural pigments has increased (Valentim et al., 2019). In Brazil and the United States, consumers choose colors between 7 and 10 on the DSM[®] colorimetric fan, conversely, in Mexico and Japan, consumers prefer more pigmented yolks, ranging between scores 10 and 14 (Galobart et al., 2004; Moura et al., 2016). Currently, consumers demand healthier and natural products, with paprika (*Capsicum annuum*), calendula flower (*Tagetes erecta*), annatto (*Bixa orellana*), and turmeric (*Curcuma longa*) being the main sources of natural pigments used in poultry nutrition, while canthaxanthin is the reference synthetic pigment (Fassani et al., 2019; Valentim et al., 2019). Natural pigments can be extracted from plant parts and require a higher concentration than synthetic ones in the diet of hens to obtain the desired color in egg yolks. Canthaxanthin (C₄₀H₅₂O₂) is used to intensify the red-orange color of the egg yolk. Its pigmentation capacity is proven in all studies already conducted and recently, the focus has been on its supplementation in combination with yellow carotenoids (Faruk et al., 2018; Maia et al., 2022). Nevertheless, there is a lack of knowledge regarding the effects of replacing synthetic with natural pigments, such as turmeric, paprika, and annatto on internal egg quality, mainly in wheat-based diets which thus warrants investigation.

Paprika is considered one of the most consumed natural condiments in the world and the most used in laying hens diets. Paprika extract is originated from grinding dehydrated chili

(*Capsicum annum*) and has a red coloration with red-orange pigmentation capacity (Galobart et al., 2004; Moura et al., 2011). Galobart et al. (2004) concluded that the use of paprika in diets with 50% wheat in *ISA Brown* laying hens improves the color of the yolk. Annatto is considered one of the main sources of dye used in the world, mainly in the food and pharmaceutical industry, in addition to its inclusion in poultry nutrition. The annatto extract is extracted from the seed and the main pigment present is bixin, which has a red-orange staining capacity (Braz et al., 2007). Some studies have shown positive results of annatto in corn and sorghum-based diets on the color of yolks in laying hens (Martínez et al., 2021; Oliveira et al., 2021). Turmeric presents in its composition the pigment curcumin, widely used as a dye and food condiment. Turmeric extract has been studied as a pigment in animal feed, as it has a yellow-orange polyphenol (Khan et al., 2012), which has aroused interest in poultry feed, aiming at the pigmentation of the yolks (Abbas et al., 2010). Although research shows the positive influence of pigments on egg yolk color (Valentim et al., 2019; Martínez et al., 2021) the effects of most natural pigments on 100% wheat diets are not yet known.

The objective of this work was to evaluate the influence of supplementation with turmeric, paprika, annatto or canthaxanthin synthetic in wheat or corn-based diets for laying hens on internal egg quality.

Material and methods

The experiment was carried out at a laying farm located in the city of Ouro, situated in the state of Santa Catarina, Brazil. The animals were housed at a density of 7 hens per m² in groups of 41 in 20 experimental pens. Each pen measuring 1.5m × 4.0m contained a tube feeder, five nipple drinkers, three perching platforms, and eight nesting boxes. The pen floor was covered with 10 cm of pine shavings. The protocol and methods for this experiment were approved by

the Commission for Ethics in Animal Experimentation of the Embrapa Swine and Poultry Research Centre under registration number 13/2022.

A total of 820 *ISA Brown* laying hens at 78 weeks of age with an average body weight of 2.1kg were used. Hens were subjected to 20 supplementation treatments, in a completely randomized design: turmeric, paprika, and annatto at levels 0.1%, 0.2%, 0.3% and 0.4% each, and canthaxanthin at levels 0.003%, 0.006%, 0.009% and 0.012% in wheat and soybean meal-based diets; canthaxanthin at levels 0.003% and 0.006% in corn and soybean meal-based diets; and two control groups with no pigment addition in corn and soybean meal and wheat and soybean meal-based diets (Table 1).

Before the experiment, the birds received a standard diet based on corn and soybean meal without pigments. The experimental diets were formulated based on corn and soybean meal or wheat and soybean meal, to meet the nutritional requirements of laying hens over 70 weeks of age and with a laying rate higher than 80%, based on the Brazilian Tables of nutritional requirements for Poultry and Pigs (Rostagno et al., 2017). The experimental diets based on wheat received the addition of threonine and a higher amount of lysine to balance the essential amino acids. Powder extracts of pigments were included in experimental diets replacing the inert in the amounts of 0.003%, 0.006%, 0.009%, 0.012%, 0.1%, 0.2%, 0.3% or 0.4%. The laying hens received the experimental diets through a fixed food supply program of 125g per bird per day. The water supply was *ad libitum* and the light program was 16 hours a day. Feed supply and egg collection were performed manually. The field experiment lasted four weeks.

The yolk color density, *Haugh* unit, and yolk index were obtained through the use of digital *Egg Tester* equipment (Nabel - DET 6000, Nabel Co., Ltd., Kyoto, Japan). The analyses were performed on two fresh eggs per treatment at day zero following ten eggs per treatment on days: 3, 7, 14, 21 and 28 after the beginning of the experiment. Therefore, a total of 1040 eggs

were collected and analyzed individually. Day zero, before the supplementation with pigments, was considered the reference value for the variable responses. To evaluate internal egg quality according to the treatments and supplementation time the was conducted in accordance with a split-plot scheme in a completely randomized design, with treatments assigned to the main plots and supplementation time assigned to split-plots. The eggs were sent to the Laboratory of Physicochemical Analysis of Embrapa Swine and Poultry Research Centre, Brazil, where they were stored at a controlled temperature (17°C) until the analysis on the day after collection. All egg analyses, were performed in the same place, time, and environment.

The “easynova” package (Arnhold, 2013) of the statistical software R (R Core Team, 2022) was used. The statistical analyses were undertaken according to the following model: $Y_{ijk} = \mu + d_i + s_j + w_k + dw_{ik} + e_{ijk}$, where: μ = overall mean, d_i = fixed effect of treatments ($i = 1$ to 20), s_j = random effect of subject ($j = 1$ to 20), w_k = fixed effect of the supplementation time ($k = 0, 3, 7, 14, 21$ and 28 days), dw_{ik} = interaction between treatment and supplementation time and e_{ijk} = random error (residual error). The residual covariance matrix structures for model adjustment were selected in function of the lowest value found in the Akaike information criterion (AIC). Following ANOVA, to test contrasts of treatment means, the multi-comparison procedure was executed, comparing the adjusted means through the Tukey test. Linear and quadratic regression analyses were also performed to verify the relationship between the inclusion levels of each pigment in the diets with the response variables.

To determine the relationship between the time of supplementation with the yolk color, the quadratic plateau polynomial model was applied using the nonlinear procedure of the “easynls” package of the software R (R Core Team, 2022) with the following argument " $y \sim (a + b * x + c * I(x^2)) * (x \leq -0.5 * b/c) + (a + I(-b^2/(4 * c))) * (x > -0.5 * b/c)$ ". The models were fitted using the averages of the doses from the initial analysis of variance. The hypothesis was

according to the time of supplementation, more pigment supplied in the diets should correlate to more color in the yolk yield, but the relationship will most likely not be linear. The quadratic plateau model is a type of segmented model that has a curved component that meets a zero-slope plateau at the joining point. All the statistical tests were conducted with a $P < 0.05$ level of significance. All the analyses were executed using the statistical program R (R Core Team, 2022).

Results and discussion

The corn-based diets, even without the addition of pigments met the preference for color degree of 7 DMS[®] used in Brazil, but, the wheat-based diets at 28 days from supplementation at higher doses reached values close to 3 (Table 2). The main carotenoid found in corn is lutein, which increases yellow but does not adequately enhance the red pigmentation of the yolk (Gurbuz et al., 2003), limiting superior pigmentation. Nevertheless, according to Moura et al. (2011), the corn-based and soybean meal feed meets the need for pigmentation in the yolk satisfactorily for Brazilians and Americans.

The values of the coefficient of determination (R^2) were high and similar indicating that the models had a good fit on the data (Table 3). An initial increasing in yolk pigmentation can be observed in plots already on the third day from canthaxanthin supplementation in corn and wheat-based diets. In the sequence, a beginning of stabilization in the yolk color can be observed on the fourth day from supplementation, and from the sixth day the color stabilizes at maximum values close to 15 in the supplementation levels above 0.006% of canthaxanthin. Nonetheless, the color of the yolk does not appear to increase anymore from about five days after the beginning of the canthaxanthin supplementation in corn-based diets (12.85 and 14.2 - the plateau - for 0.003% and 0.006% levels, respectively). The canthaxanthin level 0.003%, just after three

days of supplementation, was sufficient to produce eggs with yolk color according to the standard of the most demanding consumers in terms of pigmentation intensity, both in corn and wheat-based diets. These results align with those reported by Faruk et al. (2018) through a meta-analysis, revealing a linear relationship ($r^2 = 0.79$) between the quantity of canthaxanthin present in the feed and its corresponding detection in the egg yolk. The study also highlighted a supplementation range of canthaxanthin from 0 to 8 mg/kg of feed. The establishment of an upper limit, such as the permissible 8 mg/kg in laying hen feed in Europe for canthaxanthin (EU, 2015), serves specific purposes, notably ensuring consumer safety. The utilization of synthetic pigments necessitates the application of minimal quantities to achieve the desired color intensity (Moraleco et al., 2019). Conversely, the mechanisms associated with carotenoid metabolism and functions in avian species represent a new research area that necessitates additional exploration to elucidate the observed effects (Esatbeyoglu and Rimbach, 2017).

In brief, following digestion, pigments are assimilated from the chicken's intestinal tract and integrated into triglyceride-rich lipoproteins (portomicra), subsequently released into the circulatory system and transported to the yolk (Salma et al., 2007; Lokaewmanee et al., 2010; Oliveira et al., 2021). The allocation of pigments to specific tissues is contingent upon birds' digestive capacity, absorption efficiency, metabolic processes, the rate of deposition, and the quantity of pigments present in their diets (Chaves et al., 2022).

The models evaluating turmeric, paprika, and annatto, in all supplementation levels, presented very similar curves, demonstrating the depigmentation of egg yolk in wheat-based diets throughout the experimental period (Table 3). The addition of natural pigments was not enough to maintain or intensify the initial staining of the yolks at the beginning of the experiment or equivalent to the values observed in corn-based diets with or without the addition of synthetic pigments. It is noteworthy that the models presented estimate for the plateau values

for yolk color which ranged between 2.71 and 3.73 and also for critical points that ranged from 13.46 to 21.38. A significant decrease in yolk pigmentation can be observed up to 14 days after the beginning of supplementation with turmeric, paprika, or annatto in wheat-based diets. In the sequence, the beginning of stabilization in yolk color occurred between 14 and 21 days, and finally, from 21 days from supplementation, the yolk color stabilized at minimum values close to 3.0. Hammershoj et al. (2010) analyzing various natural pigments in the diet of light-laying hens stated that it took 14 days to reach the plateau. Sandeski et al. (2014) found that yellow and red synthetic pigments need 15 days to reach the plateau, while Chaves et al. (2022) reported on average 18 days in diets that contained synthetic and natural pigments. In general, the efficiency of yolk pigmentation depends on several factors, such as the amount of carotenoids ingested, the period of consumption, and the ability of birds to absorb those (Amaya et al., 2014).

Yolk color was greater in the canthaxanthin groups than in the natural pigment groups. Similar results were found by Valentim et al. (2019), where canthaxanthin showed higher average yolk color when compared to paprika extract. The authors also suggested that to ensure a yolk color close to synthetic, it would be necessary to include 0.8% paprika in the diet. The saponified extract from paprika (*Capsicum annum*) comprises diverse carotenoids, ranging from 25 to 90g/kg, with capsanthin being the predominant carotenoid, constituting over 35% of the total carotenoids. The recommended maximum usage level of 40mg TC/kg feed is considered safe for both chickens intended for fattening and laying hens (Bampidis et al., 2020). The authors observed that across the entire dose range of total carotenoids from saponified paprika extract supplementation (15-240mg TC/kg), all parameters related to egg yolk color exhibited a significant increase in intense red color with higher levels of saponified paprika extract. Conversely, lightness and yellowness exhibited significant decreases. The panel noted that satisfactory egg yolk pigmentation (value around 14 using the Roche[®] Yolk Colour Fan)

was achieved with 15mg total carotenoids/kg feed, while higher values were obtained with 80 and 240mg total carotenoids/kg complete feed, surpassing consumer expectations for table eggs.

Some studies have consistently demonstrated a dose-dependent effect of paprika extract on egg yolk color (Lai et al., 1996; Galobart et al., 2004). Other studies, also confirmed this effect (Baiao et al., 1999; González et al., 1999), with the lowest effective dose reported at 4 mg total carotenoids/kg feed (Lai et al., 1996; Bocanegra et al., 2004). In a more recent study, Saleh et al. (2021) explored a control diet without any colorant supplementation and a control diet supplemented with 4kg/ton of paprika. The findings revealed that the egg yolk color from hens fed the natural (paprika) colorant appeared more yellow than those from hens fed the control diet.

The control corn-based diet and the addition of canthaxanthin in wheat-based diets resulted in better pigmentation when compared to annatto supplementation. Annatto seed, derived from the non-toxic native plant *Bixa orellana* L., is a natural pigment known for its safety. Abundant in the carotenoids bixin and norbixin, the ratio of these compounds varies among cultivars, typically favoring bixin (Preston and Rickard, 1980). In a study by Silva et al. (2000), employing a positive control corn-based diet as the primary energy source and a basal sorghum diet supplemented with varying percentages of annatto extract, it was found that the addition of 0.1% annatto extract to layer diets containing 40% sorghum yielded egg yolk pigmentation comparable to diets using corn as the main energy source. However, a separate study by Braz et al. (2007) utilizing an annatto seed extract in sorghum-based commercial layer diets observed that a 2% extract inclusion failed to produce the same egg yolk color as that achieved with corn. Likewise, Silva et al. (2000) found that supplementing feeds with 4%, 8% or 12% of annatto extract in combinations containing up to 40% sorghum did not result in a yolk color equivalent to that achieved with a diet based on corn and soybean meal. In a similar context, Garcia et al.

(2010) established that the incorporation of ground annatto seeds into sorghum-based production feeds for layers is feasible. They determined that an inclusion level of 0.89% is sufficient to attain yolk pigmentation comparable to what is obtained with corn-based diets.

As reported by Garcia et al. (2009) natural sources have lower pigmentation efficiency when compared to synthetic pigments. In wheat-based diets, the incorporation of turmeric in our study did not prove sufficient to enhance yolk coloration. Research exploring the utilization of turmeric extract as a pigment in animal feed consistently indicates its positive impact on egg yolk color. Ayed et al. (2018), investigating the inclusion of 0.5% to 2.0% of turmeric in laying hens, concluded that the intensity of yolk color exhibited a linear and positive correlation with the increasing dose of turmeric ($r^2=0.975$). This suggests that a higher addition of curcuma leads to a more intense egg yolk color. Similarly, Park et al. (2012) observed a significant increase in yolk color with the addition of 0.5% dietary turmeric powder compared to a control group. Riasi et al. (2012) reported a significant effect on yolk color after four weeks of dietary supplementation with turmeric. The authors attributed the enhancement of yolk color to the yellowish pigments present in turmeric, such as curcuminoids, curcumin, and related compounds. In contrast, Gumus et al. (2018) reported that yolk color remained unaffected by dietary supplementation with 0.5% of turmeric, aligning with the findings of our study.

The *Haugh* unit pattern did not differ between treatments throughout the supplementation times, with a significantly higher total mean for paprika 0.2% (85.7) compared to canthaxanthin 0.009% (77.9) and annatto 0.4% (78.0) in wheat-base diet *Haugh* unit was not significantly different among supplementation times. In addition, the interaction between treatments and supplementation times was not significant (Table 4). These results confirm that canthaxanthin, turmeric, paprika, and annatto do not affect the quality of egg albumen in hens fed with corn or wheat-based diets. There were no significant differences in the yolk index according to the

treatments and, time of supplementation. Additionally, there was no significant interaction between the two factors (Table 5). Until the end of the experimental period, the *Haugh* unit remained within the standard established by the USDA (2000) as excellent quality (AA), regardless of the pigment and cereal used. Other authors have also reported that synthetic and natural pigments do not influence *Haugh* unit values (Garcia et al., 2009; Fassani et al., 2019).

The yolk index was within the recommended range of good quality for fresh eggs, which corroborates the results obtained by Papadopoulos et al. (2019) and Valentim et al. (2019) with the use of pigments in poultry diets. These authors state that the treatments only alter the intensification of the egg yolk color, without influencing the other variables of egg quality of laying hens. In summary, our findings highlight the limitations of natural pigments, including turmeric, paprika, and annatto, at a level of 0.4%, in achieving the desired yolk color. This underscores the necessity for further research to determine their optimal supplementation levels in wheat-based diets. However, in cases of corn scarcity within the conventional egg production system, the incorporation of wheat with the addition of 0.003% canthaxanthin to the diet emerges as a viable solution, ensuring yolk color quality without compromise.

Conclusions

1. Corn-based diets meet the desired yolk color preference in Brazil, even without the addition of pigments.

2. Yolk color is consistently greater in canthaxanthin groups compared to natural pigment groups, confirming the superior pigmentation efficiency of synthetic pigments.

3. Canthaxanthin supplementation, starting at 0.003%, proves effective in enhancing yolk color in both corn and wheat-based diets, achieving consumer-preferred pigmentation intensity within three days.

4. Natural pigments from turmeric, paprika, and annatto included up to 0.4% in hens' diet fail to maintain or intensify yolk color in wheat-based diets.

5. The low efficacy of turmeric, paprika, and annatto in wheat-based diets can be attributed to their insufficient inclusion in the experimental diets.

6. While synthetic pigments like canthaxanthin prove effective, the deficiency of natural pigments, such as turmeric, paprika, and annatto, in achieving desired yolk color highlights the need for further research on their optimal supplementation levels.

7. The *Haugh* unit pattern remains consistent across treatments and supplementation times, indicating that canthaxanthin, turmeric, paprika, and annatto do not affect egg albumen quality.

8. The yolk index remains within the recommended range for good quality fresh eggs regardless of the pigment and cereal used.

Acknowledgements

To the Federal University of Pelotas and the Graduate Program in Animal Science for the opportunity. To CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) for the financial support. To the Brazilian Agricultural Research Corporation - Embrapa Swine and Poultry for the partnership.

Author contributions

Diciane Giehl: Execution of the experiment, laboratory analyses, and manuscript writing. Victor Roll: Statistical analysis, interpretation of results, and manuscript revision. Everton Krabbe: Experimental design, formulation of diets, and manuscript revision. Valdir de Ávila: Experiment supervision and manuscript revision.

References

ABBAS, R.Z.; IQBAL, Z.; KHAN, M.N.; ZAFAR, M.A.; ZIA, M.A. Anticoccidial Activity of *Curcuma longa* L. in Broilers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53, p.63-67, 2010. DOI:<https://doi.org/10.1590/S1516-89132010000100008>.
ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Ovo caipira**. 2019. Available at: <<http://abnt.org.br/paginampe/biblioteca/files/upload/anexos/pdf/6004589acb595833bbccc9f09fa09f18.pdf>>. Accessed on: Jan. 24 2023.

- AMAYA, E.; BECQUET, P.; CARNÉ, S.; PERIS, S.; MIRALLES, P. **Carotenoids in animal nutrition**. 1. ed. Brussels:Fefana, 2014. 51p.
- ARNHOLD, E. Package in the R environment for analysis of variance and complementary analyses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, p.488-492, 2013. DOI:<https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v50i6p488-492>.
- AYED, M.; AÏSSA, A.; NOUMI, M. A comparative study between the effects of feed inclusion with garlic (*Allium sativum*), cloves and turmeric (*Curcuma longa*) rhizome powder on laying hens' performance and egg quality. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v.8, n.4, p.693-701, 2018.
- BAIAO, N.C.; MENDEZ, J.; MATEOS, J.; GARCIA, M.; MATEOS, G.G. Pigmenting Efficacy of Several Oxycarotenoids on Egg Yolk. **Journal of Applied Poultry Science**, v.8, p. 472–479, 1999. DOI:<https://doi.org/10.1093/japr/8.4.472>.
- BAMPIDIS, V.; AZIMONTI, G.; BASTOS, M.L.; CHRISTENSEN, H.; DUSEMUND, B.; DURJAVA, M.K.; LÓPEZ-ALONSO, M.; PUENTE, S.L.; MARCON, F.; MAYO, B.; PECHOVÁ, A.; PETKOVA, M.; RAMOS, F.; SANZ, Y.; VILA, R.E.; WOUTERSEN, R.; AQUILINA, G.; BORIES, G.; GROPP, J.; RENSHAW, D.; HOLCZKNECHT, O.; VETTORI, M.V.; KOUBA, M. Safety and efficacy of saponified paprika extract, containing capsanthin as main carotenoid source, for poultry for fattening and laying (except turkeys). **EFSA Journal** v.18, n.2, 2020. DOI:<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6023>.
- BOCANEGRA, E.; OSPINA-OSORIO, X.; OVIEDO-RONDÓN, E.O. Evaluation of xanthophylls extracted from *Tagetes erectus* (Marigold Flower) and *Capsicum* sp. (Red Pepper Paprika) as a pigment for egg-yolks compare with synthetic pigments. **International Journal of Poultry Science**, v.3, p.685–689, 2004. DOI:10.3923/ijps.2004.685.689.
- BRAZ, N.M.; FUENTES, M.D.F.F.; FREITAS, E.R.; SUCUPIRA, F.F.; MOREIRA, R.F.; LIMA, R.C. Semente residual do urucum na alimentação de poedeiras comerciais: desempenho e características dos ovos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.29, p.1-10, 2007. DOI:10.4025/actascianimsci.v29i2.207.
- CHAVES, C.A.R.; MIRANDA, D.A.; GERALDO, A. MACHADO, L.C.; VALENTIM, J.K.; GARCIA, R.G. Natural and synthetic pigments in sorghum-based diets for laying hens. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.44, p.1-8. 2022. DOI:10.4025/actascianimsci.v44i1.53060.
- ESATBEYOGLU, T. and RIMBACH, G. Canthaxanthin: From molecule to function. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.61, n.6, 2017. DOI:10.1002/mnfr.201600469.
- EUROPEAN COMMISSION, COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2015/1486 of 2 September 2015 concerning the authorisation of canthaxanthin as feed additive for certain categories of poultry, ornamental fish and ornamental birds. **Official Journal of the European Union** 2015, L229, p5-8.
- FARUK, M.J.; ROOS, F.F.; CISNEROS-GONZALES, F. A meta-analysis on the effect of canthaxanthin on egg production in brown egg layers. **Poultry Science**, v.97, p.84-87, 2018. DOI:<http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex236>.
- FASSANI, E.J.; ABREU, M.T.; SILVEIRA, M.M.B.M. Coloração de gema de ovo de poedeiras comerciais recebendo pigmentante comercial na ração. **Ciência Animal Brasileira**, v.20, p.1-10, 2019. DOI:10.1590/1089-6891v20e-50231.
- GALOBART, J.; SALA, R.; RINCÓN-CARRUYO, X.; MANZANILLA, E.G.; VILÀ, B.; GASA, J. Egg yolk color as affected by saponification of different natural pigmenting sources. **Journal of Applied Poultry Research**, v.13, p.328-334, 2004. DOI:<https://doi.org/10.1093/japr/13.2.328>.

- GARCIA, E.A.; MOLINO, A.B.; BERTO, D.A.; PELÍCIA, K.; OSERA, R.H.; FAITARONE, A.B.G. Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais alimentadas com semente de urucum (*Bixa orellana* L.) moída na dieta. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, p.689-697, 2009. DOI:10.25110/arqvet.v18i1.2015.5364.
- GARCIA, E.A.; MOLINO, A.B.; GONÇALVES, H.C.; JUNQUEIRA, O.M.; PELÍCIA, K.; OSERA, R.H.; DUARTE, K.F. Ground annatto seeds (*Bixa orellana* L.) in sorghum-based commercial layer diets and their effects on performance, egg quality, and yolk pigmentation. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.12, p.259-264, 2010. DOI:https://doi.org/10.1590/S1516-635X2010000400007.
- GONZÁLEZ, M.; CASTAÑO, E.; AVILA, E.; GONZÁLEZ E. Effect of capsaicin from red pepper (*Capsicum* sp.) on the deposition of carotenoids in egg yolk. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, p.1904-1908, 1999. DOI:https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199910)79:13%3C1904::AID-JSFA452%3E3.0.CO;2-S.
- GUMUS, H.; OGUZ, M.N.; BUGDAYCI, K.E.; OGUZ, F.K. Effects of sumac and turmeric as feed additives on performance, egg quality traits, and blood parameters of laying hens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.47, p.11-22, 2018. DOI:https://doi.org/10.1590/rbz4720170114.
- GURBUZ, Y.; YASAR, S.; KARAMAN, M. Effects of addition of the red pepper from 4th harvest to corn or wheat based diets on egg-yolk colour and egg production in laying hens. **International Journal of Poultry Science**, v.2, p.107-111, 2003. DOI:10.3923/ijps.2003.107.111.
- HAMMERSHOJ, M.; KIDMOSE, U.; STEENFELD, S. Deposition of carotenoids in egg yolk by short-term supplement of coloured carrot (*Daucus carota*) varieties as forage material for egg-laying hens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.90, p.1163-1171, 2010. DOI:10.1002/jsfa.3937.
- KHAN, R.U.; NAZ, S.; JAVDANI, M.; NIKOUSEFAT, Z.; SELVAGGI, M.; TUFARELLI, V.; LAUDADIO, V. The use of turmeric (*Curcuma longa*) in poultry diets. **Poultry Science**, v.68, p.97-103, 2012. DOI:10.1017/S0043933912000104.
- LAI, S.M.; GRAY, J.L.; FLEGA, C.J.; COOPER, T. Deposition of carotenoids in eggs from hens fed diets containing saponified and unsaponified oleoresin paprika. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.72, p.166-170, 1996. DOI:https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199610)72:2%3C166::AID-JSFA633%3E3.0.CO;2-1.
- LOKAEWMANEE, K.; YAMAUCHI, K.; KOMORI T.; SAITO, K. Effects on egg yolk colour of paprika or paprika combined with marigold flower extracts, **Italian Journal of Animal Science**, v.9, n.4, 2010. e67, DOI:10.4081/ijas.2010.e67.
- MAIA, K.M.; GRIESER, D.O.; TON, A.P.S.; AQUINO, D.R.; PAULINO, M.T.F.; TOLEDO, J.B.; MARCATO, S.M. Performance and egg quality of light laying hens fed with canthaxanthin and marigold flower extract. **South African Journal of Animal Science**, v.52, p.433-443, 2022. DOI:http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v52i4.03.
- MARTÍNEZ, Y.; OROZCO, C.E.; MONTELLANO, R.M.; VALDIVIÉ, M.; PARRADO, C.A. Use of achiote (*Bixa orellana* L.) seed powder as pigment of the egg yolk of laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v.30, p.1-10, 2021. DOI:https://doi.org/10.1016/j.japr.2021.100154.
- MORALECO, D.D.; VALENTIM, J.K.; SILVA, L.G.; LIMA, H.J.D.Á.; BITENCOURT, T.M.; DALLAGO, G.M. Egg quality of laying hens fed diets with plant extracts. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.41, p.1-6, 2019. DOI:10.4025/actascianimsci.v41i1.43801.

- MOURA, A.M.A.; TAKATA, F.N.; NASCIMENTO, G.R.; SILVA, A.F.; MELO, T.V.; CECON, P.R. Pigmentantes naturais em rações à base de sorgo para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2443-2449, 2011. DOI:<https://doi.org/10.1590/S1516-35982011001100023>.
- MOURA, A.M.A.; MELO, T.V.; MIRANDA, D.J.A. Pigmentantes sintéticos para codornas japonesas alimentadas com rações à base de sorgo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, p.1007-1014, 2016. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8167>.
- OLIVEIRA, H.S.H.; RIBEIRO, A.G.; SILVA, D.A.; MACAMBIRA, G.M.; SANTOS, A.C.F.; RODRIGUES, M.R.S.; SILVA, M.F.; MOTA, M.A.A.; SILVA, J.M.S.; FERREIRA, M.L.S. Characterization and use of the carotenoid bixin, urucum seed extract (*Bixa Orellana* L.) as a pigmenting agent in diets for non-ruminant animals. **Brazilian Journal of Development**, v.7, p.64481-64494, 2021. DOI:10.34117/bjdv7n6-703.
- PAPADOPOULOS, G.A.; CHALVATZI, S.; KOPECKÝ, J.; ARSENOS, G.; FORTOMARIS, P.D. Effects of dietary fat source on lutein, zeaxanthin, and total carotenoids content of the egg yolk in laying hens during the early laying period. **British Poultry Science**, v.60, p.431-438, 2019. DOI:10.1080/00071668.2019.1614526.
- PARK, S.S.; KIM, J.M.; KIM, E.J.; KIM, H.S.; KIM, B.; KANG, C.W. Effects of dietary turmeric powder on laying performance and egg qualities in laying hens. **Korean Journal Poultry Science**, v.39, p.27-32, 2012. DOI:10.1111/jpn.13686.
- PRESTON, H.D. and RICKARD, M.D. Extraction and chemistry of annatto. **Food Chemistry** v.5, n.1, p.47-56, 1980. DOI:[https://doi.org/10.1016/0308-8146\(80\)90063-1](https://doi.org/10.1016/0308-8146(80)90063-1).
- R CORE TEAM, 2022. **R: A language and environment for statistical computing**. Available at: <<https://www.R-project.org/>>. Accessed on: Jan. 10 2023.
- RIASI, A.; KERMANSHAHI, H.; MAHDAVI, H. Production performance, egg quality and some serum metabolites of older commercial laying hens fed different levels of turmeric rhizome (*Curcuma longa*) powder. **Journal Medical Plants Research**, v.6, p. 2141-2145, 2012. DOI:10.5897/JMPR11.1316.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.L.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos; composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed. Viçosa, 2017. 488p.
- SALEH, A.A.; GAWISH, E.; MAHMOUD, S.F.; AMBER, K.; AWAD, W.; ALZAWQARI, M.H.; SHUKRY, M.; ABDEL-MONEIM, A.-M.E. Effect of natural and chemical colorant supplementation on performance, egg-quality characteristics, yolk fatty-acid profile, and blood constituents in laying hens. **Sustainability**, v.13, p.4503, 2021. DOI:<https://doi.org/10.3390/su13084503>
- SALMA, U.A., MIAH, G., TAREQ, K.M.A., MAKI, T., TSUJII, H. Effects of dietary *Rhodobacter capsulatus* on egg-yolk cholesterol and laying hen performance. **Poultry Science**. v.86, p.714-719, 2007. DOI:10.1093/ps/86.4.714.
- SANDESKI, L.M.; PONSANO, E.H.G.; NETO, M.G. Optimizing xanthophyll concentrations in diets to obtain well-pigmented yolks. **Journal of Applied Poultry Research**, v.23, p.409-417, 2014. DOI:<http://dx.doi.org/10.3382/japr.2013-00912>.
- SILVA, J.H.V.; ALBINO, L.F.T.; GODÓI, M.J.S. Efeito do extrato de urucum na pigmentação da gema dos ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1435-1439, 2000. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982000000500022>.

USDA – U.S. Department of Agriculture (2000). **Egg grading manual**. Available at: <<http://bit.do/usdaegg>> Accessed on: Nov. 17 2023.

VALENTIM, J.K.; BITTTENCOURT, T.M.; LIMA, H.J.D.; MORALECO, D.D.; TOSSUÊ, F.J.M.; SILVA, N.E.M.; VACCARO, B.C.; SILVA, L.G. Pigmentantes vegetais e sintéticos em dietas de galinhas poedeiras Negras. **Boletim de Indústria Animal**, v.76, p.1-9, 2019. DOI:10.17523/bia.2019.v76.e1438.

Table 1. Ingredients and nutritional composition of the experimental diets.

Ingredients, Kg	Corn-based diet	Wheat-based diet
Ground corn	61.287	-
Ground wheat	-	65.560
Soybean meal	23.583	17.837
Calcitic limestone	9.654	9.727
Soybean oil	3.333	4.733
Dicalcium phosphate	0.767	0.637
Salt	0.401	0.403
Vitamin/mineral mix ¹	0.300	0.300
Mycotoxin binder ²	0.100	0.100
DL-methionine	0.111	0.110
L-lysine	0.010	0.103
L-valine	0.042	0.042
L-threonine	-	0.036
BHT	0.010	0.010
Phytase ³	0.003	0.003
Inert	0.400	0.400
Total	100.000	100.000
Calculated nutritional composition	Corn-based diet	Wheat-based diet
Metabolizable energy (kcal/kg)	2850	2850
Crude protein (%)	15.618	15.938
Crude fiber (%)	2.206	2.420
Fat (%)	6.114	6.117
Calcium (%)	4.000	4.000
Available phosphorous (%)	0.340	0.340
Total phosphorous (%)	0.535	0.541
Sodium (%)	0.170	0.170
Digestible methionine (%)	0.406	0.400
Digestible lysine (%)	0.730	0.730
Digestible methionine + cystine (%)	0.530	0.661
Digestible threonine (%)	0.546	0.510
Digestible tryptophan (%)	0.173	0.182
Digestible isoleucine (%)	0.600	0.600
Digestible valine (%)	0.700	0.700
Digestible arginine (%)	0.949	0.903
Linoleic acid (%)	3.080	2.935

¹Ovotec Matriz P-3[®]: Minimum composition per kilo of product: Copper: 3330mg; Iron: 16.65g; Manganese: 33g; Selenium: 100mg; Zinc: 33.3g; Vitamin A: 4000800IU; Vitamin D3: 1000200IU; Vitamin E: 30000IU; Vitamin K3: 1674mg; Vitamin B1: 980.2mg; Vitamin B2: 4000 mg; Vitamin B6: 1633.7mg; Vitamin B12: 10000mcg; Folic acid: 1060mg; Pantothenic acid: 4980mg; Niacin: 16g; Biotin: 100mg; Choline: 140.6g; Iode: 660mg; ²MastersorbGold[®]; ³Natuphos[®]: 10000 FTU.

Table 2. Yolk color in commercial laying hens receiving corn and wheat-based diets with supplementation levels of natural and synthetic pigments.

Treatments	0 days (n=2)	3 days (n=10)	7days (n=10)	14 days (n=10)	21 days (n=10)	28 days (n=10)	Total
Corn	6.42dA	7.01dA	7.13dA	7.18dA	6.94dA	7.13dA	6.97d
Corn+Canthaxanthin 0.003%	6.24aC	11.83cB	13.01cA	12.81cA	12.94cA	12.70cA	11.58c
Corn+Canthaxanthin 0.006%	6.98aC	13.42bB	13.96bAB	14.38abAB	14.41abA	13.99bAB	12.85b
Wheat	6.64aA	5.76bE	4.16cEG	3.98cEF	2.93dEG	3.17dEG	4.44eh
Wheat+Canthaxanthin 0.003%	7.00cA	11.13cB	12.73cA	12.66cA	12.39cA	12.40cA	11.38c
Wheat+Canthaxanthin 0.006%	6.75cA	13.10bB	14.28abA	13.78bAB	14.05bA	14.06abA	12.67b
Wheat+Canthaxanthin 0.009%	7.28bA	14.57aA	14.85abA	14.90aA	14.95abA	14.54abA	13.51a
Wheat+Canthaxanthin 0.012%	6.75bA	14.53aA	15.00aA	15.00aA	15.00aA	15.00aA	13.54a
Wheat+Turmeric 0.1%	7.17aA	6.12deB	4.52egC	3.40efD	3.53egD	3.16egD	4.65efg
Wheat+Turmeric 0.2%	7.23aA	6.18deB	5.01eC	2.96eD	3.58egD	2.93egD	4.64efg
Wheat+Turmeric 0.3%	7.19aA	6.05deB	4.85eC	3.56efD	3.35egD	3.36egD	4.72ef
Wheat+Turmeric 0.4%	6.95aA	6.00eB	4.10egC	3.21efD	2.95egD	2.44gD	4.27fh
Wheat+Paprika 0.1%	6.75aA	5.84eB	3.68gC	3.15efCD	2.85fgD	2.88egCD	4.19gh
Wheat+Paprika 0.2%	7.53aA	5.85eB	4.24egC	3.23efD	3.28egD	3.34egD	4.58eh
Wheat+Paprika 0.3%	7.02aA	5.98eB	4.55cEG	3.94fCD	3.43egD	3.54efD	4.74ef
Wheat+Paprika 0.4%	6.37aA	6.12deA	4.89eB	3.95fC	3.84eC	3.69eC	4.81e
Wheat+Annatto 0.1%	6.25aA	5.82eA	3.84fgB	3.44efBC	2.60gD	2.74fgCD	4.11h
Wheat+Annatto 0.2%	7.13aA	5.85eB	4.40egC	3.58efD	3.70efCD	3.18egD	4.64efg
Wheat+Annatto 0.3%	7.14aA	5.84 eB	4.60egC	3.83efCD	3.30egD	3.36egD	4.68efg
Wheat+Annatto 0.4%	6.51aA	5.91 eB	4.69efB	3.55efC	3.64efC	3.38egD	4.61eh
Total	6.87C	8.14A	7.42B	6.82CD	6.68DE	6.54E	-
SEM	0.42	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	-

Means followed by equal lowercase letters in columns and capital letters in lines do not differs by Tukey test, at 5% probability, for the effect of diets and supplementation time, respectively. SEM, Standard Error of the Mean.

Table 3. Graphs and equations for yolk color using different doses of turmeric, paprika, annatto, and canthaxanthin and time of supplementation in corn and wheat-based diets using nonlinear quadratic models with plateau.

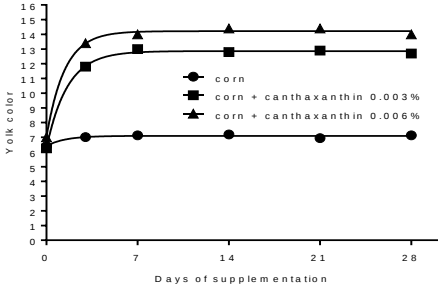
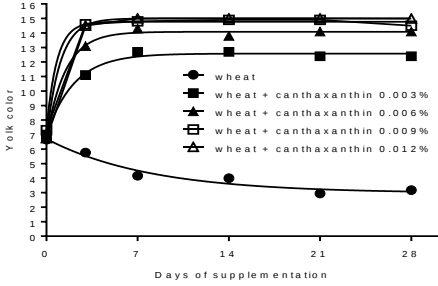
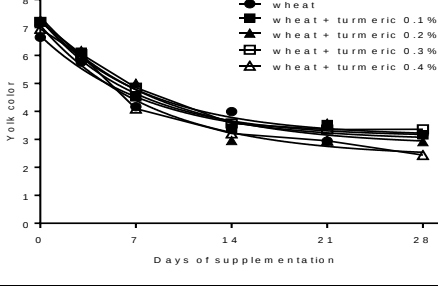
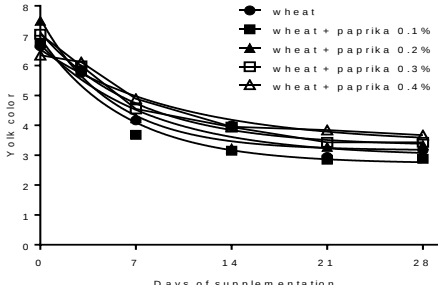
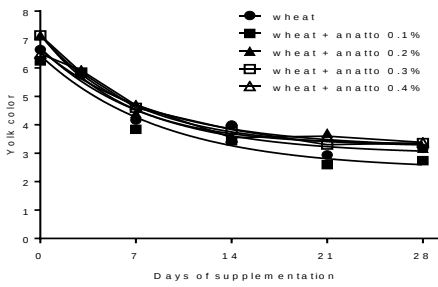
	Level	Equation	R ²	Plateau	Critical point in x
	0	$y = 6.4 + 0.3003033x - 0.03232331x^2$	0.91	7.09	4.64
	0.003	$y = 6.25 + 2.645007x - 0.2650024x^2$	0.99	12.85	4.99
	0.006	$y = 7 + 3.25x - 0.3555556x^2$	0.99	14.20	4.50
	0	$y = 6.5505503 - 0.3201058x + 0.0074868x^2$	0.95	3.12	21.37
	0.003	$y = 7 + 1.808792x - 0.1473751x^2$	0.99	12.55	6.13
	0.006	$y = 6.75 + 3.101714x - 0.3283491x^2$	0.99	14.07	4.72
	0.009	$y = 7.3 + 4.220845x - 0.5958371x^2$	0.99	14.77	3.54
	0.012	$y = 6.75 + 4.147921x - 0.521529x^2$	0.99	14.99	3.97
	0	$y = 6.5505503 - 0.3201058x + 0.0074868x^2$	0.95	3.12	21.37
	0.1	$y = 7.277422 - 0.4847506x + 0.01490029x^2$	0.99	3.33	16.26
	0.2	$y = 7.382662 - 0.4659824x + 0.01282012x^2$	0.96	3.14	18.17
	0.3	$y = 7.200672 - 0.4159935x + 0.01124302x^2$	0.98	3.35	18.50
	0.4	$y = 7.017218 - 0.4586244x + 0.01227868x^2$	0.97	2.73	18.67
	0	$y = 6.5505503 - 0.3201058x + 0.0074868x^2$	0.95	3.12	21.37
	0.1	$y = 6.9338 - 0.5621194x + 0.01978191x^2$	0.97	2.94	14.20
	0.2	$y = 7.510625 - 0.6281749x + 0.002333061x^2$	0.99	3.28	13.46
	0.3	$y = 7.02077 - 0.3985504x + 0.0112876x^2$	0.98	3.50	17.65
	0.4	$y = 6.540226 - 0.2679362x + 0.006393016x^2$	0.97	3.73	20.95
	0	$y = 6.5505503 - 0.3201058x + 0.0074868x^2$	0.95	3.13	21.37
	0.1	$y = 6.356161 - 0.3408907x + 0.00796921x^2$	0.95	2.71	21.38
	0.2	$y = 7.174668 - 0.5153407x + 0.01797784x^2$	0.98	3.48	14.33
	0.3	$y = 7.0555025 - 0.4126726x + 0.011654374x^2$	0.99	3.40	17.70
	0.4	$y = 6.630733 - 0.3365242x + 0.00892x^2$	0.98	3.45	18.85

Table 4. Haugh unit in commercial laying hens receiving corn and wheat-based diets with supplementation levels of natural and synthetic pigments.

Treatments	0 days (n=2)	3 days (n=10)	7days (n=10)	14 days (n=10)	21 days (n=10)	28 days (n=10)	Total
Corn	80.42aA	81.48aA	75.83aA	85.94aAB	85.11aA	79.96aA	81.46ab
Corn+Canthaxanthin 0.003%	81.58aA	79.55aA	79.31aA	82.00aAB	80.59aA	82.36aA	80.90ab
Corn+Canthaxanthin 0.006%	78.65aA	84.64aA	75.05aA	77.62aAB	76.18aA	82.08aA	79.03ab
Wheat	84.22aA	85.06aA	79.83aA	85.19aAB	83.80aA	87.88aA	84.33ab
Wheat+Canthaxanthin 0.003%	78.99aA	77.12aA	77.19aA	79.81aAB	80.32aA	79.50aA	78.82ab
Wheat+Canthaxanthin 0.006%	84.60aA	85.55aA	80.79aA	81.09aAB	81.69aA	80.20aA	82.32ab
Wheat+Canthaxanthin 0.009%	77.95aA	76.88aA	76.53aA	78.08aAB	80.33aA	77.41aA	77.86b
Wheat+Canthaxanthin 0.012%	80.19aA	79.46aA	75.98aA	81.67aAB	81.65aA	79.16aA	79.68ab
Wheat+Turmeric 0.1%	77.66aA	83.39aA	86.73aA	87.84aA	84.63aA	85.06aA	84.21ab
Wheat+Turmeric 0.2%	78.05aA	73.04aA	80.04aA	78.82aAB	81.82aA	81.95aA	78.95ab
Wheat+Turmeric 0.3%	85.75aA	83.68aA	82.65aA	81.16aAB	76.95aA	82.12aA	82.05ab
Wheat+Turmeric 0.4%	82.02aA	81.61aA	83.00aA	80.94aAB	83.72aA	83.48aA	82.46ab
Wheat+Paprika 0.1%	80.69aAB	87.13aA	78.20aAB	72.79bB	86.39aA	89.31aA	82.41ab
Wheat+Paprika 0.2%	91.53aA	82.50aA	82.59aA	87.42aA	84.47aA	85.51aA	85.67a
Wheat+Paprika 0.3%	86.18aA	84.31aA	78.60aA	82.84aAB	85.48aA	84.33aA	83.62ab
Wheat+Paprika 0.4%	81.12aA	82.04aA	76.10aA	76.59aAB	84.64aA	81.41aA	80.31ab
Wheat+Annatto 0.1%	86.01aA	84.83aA	84.60aA	80.89aAB	79.75aA	78.88aA	82.49ab
Wheat+Annatto 0.2%	78.93aA	84.03aA	75.92aA	80.72aAB	83.19aA	80.58aA	80.56ab
Wheat+Annatto 0.3%	79.99aA	78.00aA	80.99aA	80.59aAB	84.91aA	77.33aA	80.30ab
Wheat+Annatto 0.4%	76.50aA	73.43aA	80.11aA	81.18aAB	81.27aA	75.33aA	77.97b
Total	81.55AB	81.38AB	79.50B	81.16ABA	82.34A	81.69AB	-
SEM	6.47	2.89	2.89	2.89	2.89	2.89	-

Means followed by equal lowercase letters in columns and capital letters in lines do not differ by Tukey test, at 5% probability, for the effect of diets and supplementation time, respectively. SEM, Standard Error of the Mean.

Table 5. Yolk index in commercial laying hens receiving corn and wheat-based diets with supplementation levels of natural and synthetic pigments.

Treatments	0 days (n=2)	3 days (n=10)	7days (n=10)	14 days (n=10)	21 days (n=10)	28 days (n=10)	Total
Corn	0.49aA	0.42aA	0.44aA	0.38aA	0.42aAB	0.45aA	0.43a
Corn+Canthaxanthin 0.003%	0.26bA	0.36abA	0.40abA	0.39abA	0.45bAB	0.36abA	0.37a
Corn+Canthaxanthin 0.006%	0.41aA	0.42aA	0.37aA	0.38aA	0.34aB	0.43aA	0.39a
Wheat	0.32aA	0.38aA	0.43aA	0.38aA	0.38aAB	0.38aA	0.38a
Wheat+Canthaxanthin 0.003%	0.36aA	0.40aA	0.39aA	0.38aA	0.43aAB	0.39aA	0.39a
Wheat+Canthaxanthin 0.006%	0.43aA	0.40aA	0.42aA	0.41aA	0.45aAB	0.41aA	0.42a
Wheat+Canthaxanthin 0.009%	0.25bA	0.43aA	0.33abA	0.39abA	0.33abB	0.37abA	0.35a
Wheat+Canthaxanthin 0.012%	0.31aA	0.40aA	0.39aA	0.39aA	0.33aB	0.37aA	0.37a
Wheat+Turmeric 0.1%	0.47aA	0.36aA	0.39aA	0.33aA	0.40aAB	0.34aA	0.38a
Wheat+Turmeric 0.2%	0.40aA	0.42aA	0.40aA	0.38aA	0.34aB	0.41aA	0.39a
Wheat+Turmeric 0.3%	0.52aA	0.35bA	0.34bA	0.36abA	0.42abAB	0.41abA	0.40a
Wheat+Turmeric 0.4%	0.46aA	0.39aA	0.40aA	0.36aA	0.42aAB	0.37aA	0.40a
Wheat+Paprika 0.1%	0.34aA	0.34aA	0.39aA	0.38aA	0.39aAB	0.37aA	0.37a
Wheat+Paprika 0.2%	0.18bA	0.32abA	0.41aA	0.41aA	0.42aAB	0.41aA	0.36a
Wheat+Paprika 0.3%	0.55aA	0.42abA	0.40abA	0.36bA	0.44abAB	0.44abA	0.43a
Wheat+Paprika 0.4%	0.30aA	0.32aA	0.40aA	0.41aA	0.40aAB	0.41aA	0.37a
Wheat+Annatto 0.1%	0.40aA	0.37aA	0.36aA	0.40aA	0.42aAB	0.31aA	0.37a
Wheat+Annatto 0.2%	0.40aA	0.35aA	0.40aA	0.38aA	0.38aAB	0.40aA	0.38a
Wheat+Annatto 0.3%	0.37bA	0.35bA	0.35bA	0.41abA	0.55aA	0.39bA	0.40a
Wheat+Annatto 0.4%	0.22bA	0.36abA	0.39aA	0.32abA	0.28abB	0.40aA	0.33a
Total	0.37A	0.38A	0.39A	0.38A	0.40A	0.39A	-
SEM	0.83	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	-

Means followed by equal lowercase letters in columns and capital letters in lines do not differs by Tukey test, at 5% probability, for the effect of diets and supplementation time, respectively. SEM, Standard Error of the Mean.

**4 Capítulo 2 - Pigmentantes naturais e cantaxantina sintética em dietas de trigo
ou milho para poedeiras e influência na qualidade de ovos armazenados a 5°C
ou 25°C**

**Natural pigments and synthetic canthaxanthin in wheat or corn diets for laying hens
and their influence on the quality of eggs stored at 5°C or 25°C**

Abstract- One of the main issues in the egg market is the natural loss of product quality. The objective of this study was to evaluate the addition of natural and synthetic pigments to the diet of laying hens on the quality of eggs stored at different temperatures. Hens were subjected to 20 treatments, in a completely randomized design, with turmeric, paprika or annatto supplemented at four levels (0.1%, 0.2%, 0.3% and 0.4%) or canthaxanthin (0.003%, 0.006%, 0.009% and 0.012%) in wheat-based and soybean meal diets or two levels of supplementation (0.003% and 0.006%) the canthaxanthin in corn-based and soybean meal diets. Two control groups were also used, without pigment addition, one for wheat and another for corn. After 28 days of supplementation, 1600 eggs from *ISA Brown* laying hens at 82 weeks of age, raised in a cage-free system on litter, were collected. The eggs were stored at temperatures of 5°C or 25°C for up to 40 days. External and internal egg quality analyses and yolk peroxidation were performed after 1, 10, 20, 30 and 40 days of storage. The data highlighted the significant influence of storage temperature and the addition of pigments on determining egg quality. Egg weight, *Haugh* unit, and shell strength were negatively affected when stored at 25°C. The natural pigments paprika, turmeric and annatto were shown to be more effective against yolk oxidation, especially at higher temperatures.

Keywords: annatto, paprika, TBARS, temperature, turmeric.

Pigmentantes naturais e cantaxantina sintética em dietas de trigo ou milho para poedeiras e influência na qualidade de ovos armazenados a 5°C ou 25°C

Resumo- Um dos principais problemas para o mercado de ovos é a perda natural da qualidade do produto. O objetivo do presente estudo foi avaliar a adição de pigmentantes naturais e sintético à dieta de poedeiras sobre a qualidade de ovos armazenados em diferentes temperaturas. As poedeiras foram submetidas a 20 tratamentos, em um delineamento completamente casualizado, com cúrcuma, páprica ou urucum suplementados em quatro níveis (0,1%, 0,2%, 0,3% e 0,4%) ou cantaxantina (0,003%, 0,006%, 0,009% e 0,012%) em dietas à base de trigo e farelo de soja, ou dois níveis de suplementação (0,003% e 0,006%) de cantaxantina em dietas à base de milho e farelo de soja. Também foram utilizados dois grupos controle, sem adição de pigmento, um para o trigo e outro para o milho. Após 28 dias de suplementação foram coletados 1600 ovos oriundos de poedeiras *ISA Brown* com 82 semanas de idade, criadas em sistema *cage-free* sobre cama. Os ovos ficaram armazenados em temperaturas de 5°C ou 25°C por até 40 dias. As análises de qualidade externa e interna dos ovos e de peroxidação das gemas foram realizadas após 1, 10, 20, 30 e 40 dias de armazenamento. Os dados destacaram a influência significativa da temperatura de armazenamento e da adição de pigmentantes na determinação da qualidade dos ovos. O peso do ovo, a unidade *Haugh* e a resistência da casca foram afetados negativamente quando armazenados em temperatura de 25°C. Os pigmentantes naturais páprica, cúrcuma e urucum se mostraram mais eficazes contra o processo de oxidação das gemas, especialmente em temperaturas elevadas.

Palavras-chave: urucum, páprica, TBARS, temperatura, cúrcuma.

Introduction

Egg consumption has shown a significant increase in recent years, mainly due to its nutritional profile and versatility (ABPA, 2022). Eggs are a perishable food, and in order for the product's benefits - both nutritional and health-related - to be passed on to consumers, it is necessary to preserve their quality (Oliveira & Oliveira, 2013).

In Brazil, the recommended shelf life for eggs for consumption is a maximum of 30 days, with storage temperatures ranging from 4°C to 12°C (MAPA, 1990). The longer the storage time, the greater the loss in internal quality, and this process occurs even more rapidly if the eggs are not handled and stored properly, especially at high temperatures (Pires et al., 2021). Ideally, eggs should be refrigerated throughout the supply chain until they are sold to the end consumer. In the United States, for example, eggs must be kept at temperatures below 7.2°C (FDA, 2018; USDA, 2019). In Brazil, egg refrigeration is not mandatory, only suggested for home storage (ANVISA, 2009). Therefore, currently, a large quantity of eggs is stored at room temperature at least until the moment of purchase by the consumer, and strategies to ensure and/or extend the shelf life of eggs should be implemented by the poultry industry.

Lipids present in the yolk undergo oxidation during storage (Giampietro et al., 2008). Several studies have investigated ways to delay egg deterioration after oviposition through coatings on the final product (Pires et al., 2020). However, the diets provided to the birds are among the many factors that can influence egg quality. Nutrition can positively contribute to product quality, given its ability to alter the composition of the egg - both protein and lipid, as well as the nutrients present in the yolk (Melo et al., 2015). Thus, the use of foods with antioxidant capacity has been researched in laying hen nutrition (Rocha et al., 2013). Carotenoids are one option capable of combating the formation and propagation of free

radicals and can be found in food additives such as pigments (Garcia et al., 2002; Breithaupt, 2007). In the poultry chain, the use of pigments aims primarily to intensify yolk pigmentation, but besides this property, the present carotenoids may exhibit oxidative stability capacity (Böhm et al., 1997).

The carotenoids used in diets for commercial laying hens can be of natural or synthetic origin. Brazilian legislation establishes that only in the production of free-range eggs, the use of pigments must be of natural origin (ABNT, 2019). Additionally, considering the recent bans on most artificial additives for poultry by the Committee on Food Additives of the Food and Agriculture Organization (FAO) together with the World Health Organization (WHO), the search for natural colorants has increased, being the current trend in the egg consumer market (Valentim et al., 2019). Most of the natural carotenoids used in poultry farming come from extracts of plant origin (extracted from plant parts). Synthetic carotenoids, on the other hand, are developed in the laboratory - chemically synthesized (Paulino et al., 2022). Paprika (*Capsicum annum*), turmeric (*Curcuma longa*), marigold petal (*Tagetes erecta*) and annatto (*Bixa orellana*) extracts are the natural sources of carotenoids of greatest interest in laying hen nutrition. Canthaxanthin is recognized as the reference synthetic pigment used in conventional production systems (Fassani et al., 2019; Valentim et al., 2019).

Thus, aiming to ensure the quality of the product available to consumers, this study evaluated the supplementation of natural pigments and synthetic canthaxanthin in wheat- or corn-based diets for *ISA Brown* laying hens, regarding their contribution to the shelf life of eggs under different temperatures and storage times.

Material and methods

The protocol and methods for this experiment were approved by the Commission for Ethics in Animal Experimentation of the Embrapa Swine and Poultry Research Centre under registration number 13/2022.

Field experiment

In total, 820 *ISA Brown* laying hens at 82 weeks of age with an average body weight of 2.1kg were housed in a cage-free system, on litter. The laying hens were distributed in boxes with a density of seven birds/m², in groups of 41 in 20 experimental pens. Each box contained tube and plate feeders, nipple drinkers, and wooden nests at a ratio of one nest for every seven birds. The pen floor was covered with 10cm of pine shavings. The laying hens were weighed weekly and received the experimental diets through a fixed food supply program of 125g/bird/day. The water supply was *ad libitum* and the light program was 16 hours a day. Feed supply and egg collection were performed manually. The field experiment lasted four weeks.

Experimental diets

Before the experiment, the birds received a standard diet based on corn and soybean and without pigments. The experimental diets were formulated based on corn and soybean meal or wheat and soybean meal, to meet the nutritional requirements of laying hens over 70 weeks of age and with a laying rate higher than 80%, based on the Brazilian Tables of nutritional requirements for Poultry and Pigs (Rostagno et al., 2017). Hens were subjected to 20 treatments, in a completely randomized design, with turmeric, paprika or annatto supplemented at four levels (0.1%, 0.2%, 0.3% and 0.4%) or canthaxanthin (0.003%, 0.006%, 0.009% and 0.012%) in wheat-based diets or two levels of supplementation (0.003% and 0.006%) the canthaxanthin in corn-based diets. There were also two control groups with no

pigment addition in corn and wheat-based diets (Table 1). The experimental diets based on wheat received the addition of threonine, to balance the essential amino acids. Powder extracts of pigments were included in experimental diets replacing the inert in the amounts of 0.003%, 0.006%, 0.009%, 0.012%, 0.1%, 0.2%, 0.3% or 0.4%.

Egg Collection and Storage

After 28 days of feeding, the eggs were collected and stored at two temperatures (5°C or 25°C). Each treatment had one replicate of eight eggs for each temperature and each storage time (1, 10, 20, 30 or 40 days). In total, 1600 eggs were collected and evaluated for internal and external quality analysis. On the day of cracking, the samples were removed from the storage location and kept in the Laboratory of Embrapa Swine and Poultry Research Center at a controlled temperature of 17°C. The cracking was performed after one hour. Then, the yolks were separated and identified for lyophilization and subsequent lipid oxidation analysis.

External and internal quality analysis

The stored eggs were evaluated using a digital *Egg Tester* (model DET 6000) for analyses of egg weight (g), shell strength (kfg), *Haugh* unit (HU), yolk index (mm), yolk color (scale DSM), and shell thickness (mm).

Lipid oxidation analysis

After the internal and external quality analysis, six yolks per treatment were separated for each temperature (5°C or 25°C) and storage time (1, 10, 20, 30 and 40 days) to evaluate the TBARS index. Three replicates with two yolks each were used. Each replicate formed a homogeneous sample. Subsequently, the yolk samples underwent lyophilization and were then ground and refrigerated until the moment of lipid oxidation analysis. The analyses were performed in triplicate, each with 2g of lyophilized yolk sample. The TBARS index method

was used, which consists of spectrophotometric ally detecting the presence of thiobarbituric acid and the level of malondialdehyde (MDA) in the sample. The analysis technique followed the protocol determined by Crackel et al. (1988), adapted from Tarladgis et al. (1964). The standard curve used was tetramethoxypropane (TEP), and the results were expressed in mg of MDA/g of egg yolk.

Statistical analyses

This paper employs three exploratory data analysis methods - principal component analysis, partitional clustering, and dissimilarity analysis - to enhance the data description. Mean values of measured parameters for each treatment were calculated across all shelf times and subjected to multivariate analysis. Principal component analyses were conducted based on the standardized means of treatments regarding egg trait variables during the storage period. This exploration aimed to uncover natural distribution, clusters, and correlations between variables. Principal component analysis is an exploratory technique for multidimensional statistical series that graphically presents maximum information in a data matrix. Typically used as a pre-processing tool before clustering analysis, it was followed by hierarchical cluster analysis to classify treatments' behavior into subgroups with similar characteristics. PCA and cluster analyses utilized the R package "FactoMineR" (Le et al., 2008). Exploratory Data Analysis is essential in statistical analyses and can serve as a primary objective or a preliminary study before modeling (Husson et al., 2010).

Quantitative data's dissimilarity matrix calculation employed the mean of each treatment and applied the Euclidean distance. To summarize information and enhance visualization, a dissimilarity graph was constructed using the "SummaryDistancia" function of the "MultivariateAnalysis" statistical package in R (R CORE TEAM, 2023). A two-tailed Pearson's correlation coefficient was used to determine variable correlations. Subsequently, a

univariate approach analyzed Malondialdehyde (MDA) using linear models. Initially, a complete model with explanatory variables was defined, and a linear model (estimated using OLS) was fitted to predict MDA with the formula: $MDA \sim \text{Day} + I(\text{Day}^2) + \text{Temperature} + \text{Pigmentant} + I(\text{Pigmentant}^2)$. Standardized parameters were obtained by fitting the model on a standardized dataset. Confidence Intervals (CIs) and p-values (using a Wald t-distribution approximation) were computed at a 95% level. The stepwise multiple regression backward/forward procedure was then employed to obtain the best models predicting MDA from fixed effects of Day, Temperature, and Pigmentant. Evaluation and comparison of different regression models used Akaike information criterion (AIC), and significance values. Subsequently, the fit of each model was examined through graphical analysis.

Results and discussion

The storage temperature (5°C or 25°C) significantly impacted egg weight, *Haugh* unit and shell strength, confirming the proposition by Liu et al. (2016) that the temperature utilized during the egg storage period is a determining factor for the speed of deterioration of egg quality.

The partitioning into two clusters by the storage temperature variable is represented on the map, and the experimental diets are colored according to their cluster (Figure 1). The two clusters per temperature explained 78.8% of the total observed variation in the set of experimental diets and egg storage temperatures. This methodology indicated which combinations of factors produced the best responses. It was observed that in dimension 1, the results of *Haugh* units, shell strength, and egg weight were negatively correlated with the storage temperature, while positively correlated with yolk color, yolk index and shell thickness. This means that with a higher storage temperature, eggs are expected to have lower weight, *Haugh* unit and shell strength, which can be justified by the loss of water and gases

from inside the eggs through the pores of the shell (Sarica et al., 2012). Therefore, the reduction in internal quality consequently affects shell strength (Yüceer; Caner, 2020). On the other hand, it was observed that in principal component 2, the results of yolk color and yolk index were positively correlated with canthaxanthin supplementation in the hen's diet, while they were negatively correlated in hens supplemented with natural pigments in wheat-based diets. A disadvantage of natural products, responsible for the orange hue of the egg yolk, is that the concentration of xanthophylls in the feed needs to be much higher compared to synthetic canthaxanthin (Grashorn, 2016). This explains, among other things, the widespread acceptance of canthaxanthin by poultry farmers.

To deepen the understanding of the relationship between response variables and experimental diets, principal component analysis within each of the egg storage temperatures was conducted, as shown in Figure 2. It illustrates the main components of the experimental diets and response variables in eggs stored at a refrigerated temperature of 5°C and ambient temperature of 25°C, along with the representation of clusters, indicating the most similar sets of treatments. The 5°C temperature explains 72.8% of the total variation observed in the set of experimental diets, while the 25°C temperature accounts for 68.8% of the egg storage condition. From the consumers perspective, the averages for the egg yolk color characteristic in stored eggs appeared lower (clusters 1 and 2) for all wheat-based diets supplemented with natural pigments (3.25 and 3.27 points on average, respectively) compared to 12.95 points for treatments in cluster 3 (corn and soybean meal or wheat and soybean meal diets supplemented with canthaxanthin).

The egg yolk color and shell thickness showed a significant positive correlation ($R=0.67$, $P=0.001$) and were primarily associated with cluster 3, influenced by the treatments of corn + 0.003% canthaxanthin, corn + 0.006% canthaxanthin and wheat + 0.009%

canthaxanthin. The diets in cluster 1 exhibited a lower average egg weight over the storage time (61.1 g on average). The *Haugh* unit and shell strength were highly correlated ($R=0.96$, $P<0.0001$) and mainly associated with cluster 2, influenced by the treatments of wheat + 0.300% paprika and wheat + 0.100% turmeric. The *Haugh* unit was higher in clusters 2 (77.07) and 3 (76.65) compared to cluster 1 (74.93). In the formation of clusters at 25°C, similar groups to those at 5°C were observed. Cluster 1 primarily comprised treatments supplemented with canthaxanthin, except for wheat + 0.009% canthaxanthin, which fell into another cluster. The diets in this cluster exhibited a higher average egg yolk color over time (12.8 points) compared to clusters 2 (5.49 points) and 3 (4.0 points), consisting of wheat diets supplemented with natural pigments. Cluster 2 had higher egg weight values, while Cluster 3 showed superior *Haugh* unit and shell strength values. At 25°C, egg yolk color was negatively correlated with egg weight ($R=-0.58$, $P=0.006$), and the *Haugh* unit was positively correlated with shell strength ($R=0.94$, $P<0.001$).

The dissimilarity measures between treatments for the six egg characteristics stored at temperatures of 5°C and 25°C are shown in Figure 3. At 5°C, the smallest distance between treatments was 0.36 (redder color), indicating greater similarity between wheat + 0.200% turmeric and wheat + 0.400% turmeric, while the largest distance was 6.1 (bluer color), representing greater dissimilarity between Corn without pigments and wheat + 0.100% turmeric. The average distance was 3.3, with a standard deviation of 1.03 and a coefficient of variation of 31.42%. For the temperature of 25°C, the smallest distance between treatments was 1.05 (more reddish), indicating greater similarity between wheat + 0.006% canthaxanthin and wheat + 0.009% canthaxanthin, while the largest distance was 6.2 (more bluish), representing greater dissimilarity between corn without pigments and wheat + 0.400% annatto. The average distance was 3.28, with a standard deviation of 1.09 and a coefficient of

variation of 33.36%. The means of egg weight, eggshell strength, *Haugh* unit, yolk index, eggshell thickness and yolk color of eggs stored at temperatures of 5°C or 25°C according to 20 experimental diets are shown in Figure 4.

Lipid oxidation, also known as peroxidation, is a natural and inevitable phenomenon in foods, determining their shelf life. This oxidation leads to chemical reactions that produce undesirable substances, resulting in changes in nutritional value by destroying fat-soluble vitamins and essential fatty acids (Frankel, 1984; Cherian et al., 1996). The results that showed an effect on lipid oxidation in relation to malondialdehyde (MDA) values are represented in Figure 5 for the fixed effects of temperature, day and dose, according to each pigment and diet used. The MDA values (mg/g sample) found in this study do not demonstrate impairment in lipid peroxidation up to 40 days of storage, independent of the temperature, with the inclusion of the pigments used, as the TBARS analysis results are below the limit proposed by Torres and Okani (1997), who indicated that values up to 1.59mg/g sample do not cause changes in sensory characteristics or harm to consumer health.

Temperature had a negative effect on the canthaxanthin pigment in corn-based and soybean meal diets ($P < 0.001$). The highest MDA/g values in egg yolks supplemented with the synthetic pigment were observed at 25°C. While the inclusion of natural pigments showed no effect on temperature, suggesting an advantage in using paprika, turmeric and annatto extracts for egg quality compared to the current model employed in Brazil for product storage in the distribution sector, considering that 92% of fresh eggs sold in their natural state are exposed to ambient temperatures and refrigerated only at the consumer's home (Oliveira; Oliveira, 2013).

For the storage period, canthaxanthin showed a significant effect ($P < 0.001$) in corn-based soybean meal diets, with an increase in MDA values as the storage time increased. In

diets containing canthaxanthin and wheat, there was a slight elevation in MDA values up to the first 20 days, after which a reduction was observed until the final day of analysis, without a significant effect ($P=0.124$). A similar result was found regarding the time curve of storage for paprika extracts ($P<0.001$) and annatto ($P=0.081$). Thimótheo (2016) noted a similar pattern of lipid oxidation in eggs from cage-free systems, but with higher values: 0.19, 0.18, 0.27, 0.19 and 0.18mg of malondialdehyde per gram of sample for 0, 7, 14, 21 and 28 days of storage, respectively. Regarding the increase and subsequent decrease in MDA values, the study conducted by Galobart et al. (2001) observed a similar behavior, which the authors explained occurs due to the reaction of MDA with other compounds present. Thiobarbituric acid binds to MDA, and as the storage time progresses, the amount of available MDA is reduced.

Regarding the dosages used, except for the treatments with wheat + canthaxanthin and corn + canthaxanthin, the other diets showed a significant effect ($P<0.001$). Increasing the doses reduced the MDA values from the inclusion of paprika and turmeric compared to diets without the pigment, suggesting that paprika and turmeric extracts in wheat-based diets exhibited greater stability capacity in the peroxidation of the evaluated egg yolks. However, for annatto extract, the best results were observed for dosages of 0.1%, 0.2% and 0.3%. Although the highest dose (0.4%) is still below the limit that could affect the oxidative quality of the egg yolks.

Conclusions

1. The data highlighted the significance of storage temperature in determining key egg characteristics such as weight, *Haugh* unit, shell strength, thickness, yolk index and yolk color.

2. The variables of egg weight, *Haugh* unit and shell strength were negatively correlated with the storage temperature the 25°C.

3. The yolk color and yolk index showed positive results for the supplementation of canthaxanthin and negative from the inclusion of natural pigments.

4. Additionally, lipid oxidation affects the quality of eggs, with canthaxanthin being more sensitive to higher temperatures compared to natural pigments, which demonstrated greater stability against peroxidation.

5. The inclusion of natural pigments did not show an effect on temperature, while supplementation with canthaxanthin in wheat or corn diets had a negative effect, with an increase in temperature leading to higher MDA values (mg/g of egg yolk).

6. For the storage period, only corn-based diets supplemented with canthaxanthin showed a significant effect, with an increase in MDA values as the storage time lengthened.

7. Higher doses of natural's pigments resulted in a reduction in MDA levels, indicating that pigments such as paprika and turmeric may be a more effective option in preventing lipid oxidation in eggs, thereby contributing to better quality and shelf life of the final product.

Acknowledgements

To the Federal University of Pelotas and the Graduate Program in Animal Science for the opportunity. To CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) for the financial support. To the Brazilian Agricultural Research Corporation - Embrapa Swine and Poultry for the partnership.

Author contributions

Diciane Giehl: Execution of the experiment, laboratory analyses, and manuscript writing. Victor Roll: Statistical analysis, interpretation of results, and manuscript revision. Everton Krabbe: Experimental design, formulation of diets, and manuscript revision. Valdir de Ávila: Experiment supervision and manuscript revision.

References

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2019). **Ovo caipira**. Available at: <<http://abnt.org.br/paginampe/biblioteca/files/upload/anexos/pdf/6004589acb595833bbccc9f09fa09f18.pdf>>. Accessed on: Nov. 24 2023.
- ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. (2022). **Relatório Anual 2022**. 106p.
- ANVISA - Agency National Health Surveillance. (2009). RDC Nº 35. **Mandatory instructions for conservation and consumption on egg labeling**. Available at: <n.gov.br/ACERVO/Suvisa/doc/DOC000000000022334.PDF>. Accessed on: Oct. 04 2023.
- BÖHM, F.; EDGE, R.; LAND, E.J.; MCGARVEY, D.J. & TRUSCOTT, T.G. (1997). Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency, **Journal of the American Chemical Society**, v.119, p.621-622.
- BREITHAUPT, D.E. (2007). Modern application of xanthophylls in animal feeding: A review. **Trends Food Science & Technology**, v.18, n.10, p.501-506.
- CHERIAN, G.; WOLFE, F.W. & SIM, J.S. (1996) Feeding dietary oils with tocopherols: effects on internal qualities of eggs during storage. **Journal of Food Science**, v.61, p.15-18.
- CRACKEL, R.L.; GRAY, J.I.; PEARSON, A.M.; BOOREN, A.M. & BUCKLEY, D.J. (1988). Some further observation on the TBA test as index of lipid in meats. **Journal Food Chemistry**, p.187-196.
- FASSANI, E.J.; ABREU, M.T. & SILVEIRA, M.M.B.M. (2019). Coloração de gema de ovo de poedeiras comerciais recebendo pigmentante comercial na ração. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20.
- FDA - Food and Drug Administration (2018). **Egg Safety Final Rule**. Available at: <<http://bit.do/fda-eggs>>. Accessed on: Nov. 27 2023.
- FRANKEL, E. N. (1984). Lipid oxidation: Mechanism, products and flavor significance. **Journal of the American Chemical Society**, v.61, p.1908-1916.
- GALOBART, J.; BARROETA, A.C.; BAUCCELLS, M.D.; CORTINAS, L.; GUARDIOLA, F. (2001). α -tocopheryl transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with w3-polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, v.80, p.1496-1505.
- GARCIA, E.A.; MENDES, A.A.; PIZZOLANTE, C.C.; GONÇALVES, H.C.; OLIVEIRA, R.P. & SILVA, M.A. (2002). Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.1.
- GIAMPIETRO, A.; SCATOLINI, A.M.; BOIAGO, M.M.; CORÓ, D.M.O.; SOUZA, H.B.A.; SOUZA, P.A.; LIMA, T.M.A. & PIZZOLANTE, C.C. (2008). Estudo da metodologia de TBARS em ovos. **Avisite**, n.13, p.18.
- GRASHORN, M.A. Feed additives for influencing chicken meat and egg yolk color. (2016). **Woodhead Publishing Series in Food Science**, p.283-302.
- HUSSON, F.; JOSSE, J. & PAGES, J. (2010). Principal component methods-hierarchical clustering-partitional clustering: why would we need to choose for visualizing data? **Applied Mathematics Department**, v. 17.
- LE, S., JOSSE, J. & HUSSON, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **Journal of Statistical Software**. v.25, n.1, p.1-18.
- LIU, Y.C.; CHEN, T.H.; WU, Y.C.; LEE, Y.C. & TAN, F.J. (2016). Effects of egg washing and storage temperature on the quality of eggshell cuticle and eggs. **Food Chemistry**, v.211, p.687-93.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (1990). Divisão de Inspeção de Carnes e Derivados: **Normas Gerais de Inspeção de Ovos e Derivados**. MAPA, Brasília, DF, Brazil.

- MELO, A.; FERNANDES, R.T.V.; OLIVEIRA, V.R.M.; QUEIROZ, J.P.A. F.; DIAS, F.K.D.; SOUZA, R.F. & SANTOS FILHO, C.A. (2015). Características físico-químicas e sensoriais de aves e ovos. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.9, n.12, p.502-557.
- OLIVEIRA, B.D. & OLIVEIRA, D.D. (2013). **Qualidade e tecnologia de ovos**. Lavras: Editora UFLA (Universidade Federal de Lavras), 223p.
- PAULINO, M.T.F.; GRIESER, D.O.; GASPARINO, E.; MAIA, K.M.; TOLEDO, J.B.; TON, A.P.S.; BUDEL, E.C. & MARCATO, S.M. (2022). Influence of pigments on the shelf life of eggs from layers hens in the final phase of production. **Research, Society and Development**, v.11, n.11.
- PIRES; P.G.S.; BAVARESCO, C.; PIRES, P.D.S.; CARDINAL, K.M.; LEUVEN, A.F.R. & ANDRETTA, I. (2021). Development of an innovative green coating to reduce egg losses. **Cleaner Engineering and Technology**. v.2, p.1-8.
- PIRES, P.G.S.; PIRES, D.G.S.; CARDINAL, K.M.; BAVARESCO, C. (2020). The use of coating in eggs: a systematic review. **Trends in Food Science & Technology**, v.106, p.312-321.
- R CORE TEAM (2023). **R: A language and environment for statistical computing**. Available at: <<https://www.R-project.org/>>. Accessed on: Nov. 10 2023.
- ROCHA, J.S.R.; BARBOSA, V.M.; LARA, L.J.C.; BAIÃO, N.C, CANÇADO, S.V.; LANA, A.M.Q.; POMPEU, M.A.; VASCONCELOS, R.J.C.; MACHADO, A.L.C.; MIRANDA, D.J.A.; FERNANDES, M.N.S. & MENDES P.M.M. (2013) Efeito do armazenamento e da cantaxantina dietética sobre a qualidade do ovo fértil e o desenvolvimento embrionário. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.3, p.792-800.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.L.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T. & BRITO, C.O. (2017). **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed., Viçosa: UFV, 488p.
- SARICA, M.; ONDER, H. & YAMAK U.S. (2012). Determining the most effective variables for egg quality traits of five hen genotypes. **International Journal of Agriculture And Biology**, v.14, p.235-240.
- TARLADGIS, B.G.; PEARSON, A.M & DUGAN JUN L.R. (1964). Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods - formation of the tb-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.15, p.602-607.
- THIMÓTHEO, M. **Duração da qualidade de ovos estocados de poedeiras criadas no sistema cage-free**. 2016. 55p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista. 2016.
- TORRES, E.A.F.S & OKANI, E.T. (1997). Teste de TBA: ranço em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, v.243, n.5, p.68-76.
- USDA – U.S. Department of Agriculture (2019). **Shell Eggs from Farm to Table**. Available at: <<http://bit.do/usdaegg>> Accessed on: Nov. 17 2023.
- VALENTIM, J.K.; BITTENCOURT, T.M.; LIMA, H.J.D.; MORALECO, D.D.; TOSSUÊ, F.J.M.; SILVA, N.E.M.; VACCARO, B.C. & SILVA, L.G. (2019). Pigmentantes vegetais e sintéticos em dietas de galinhas poedeiras Negras. **Boletim de Indústria Animal**, v.76: p.1-9.
- YÜCEER, M.; CANER, C. Antimicrobial lysozyme-chitosan coatings affect functional properties and shelf life of chicken eggs during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.94, n.1, p.153-162, 2014.

Table 1. Ingredients and nutritional composition of the experimental diets.

Ingredients, Kg	Corn-based diet	Wheat-based diet
Ground corn	61.287	-
Ground wheat	-	65.560
Soybean meal	23.583	17.837
Calcitic limestone	9.654	9.727
Soybean oil	3.333	4.733
Dicalcium phosphate	0.767	0.637
Salt	0.401	0.403
Vitamin/mineral mix ¹	0.300	0.300
Mycotoxin binder ²	0.100	0.100
DL-methionine	0.111	0.110
L-lysine	0.010	0.103
L-valine	0.042	0.042
L-threonine	-	0.036
BHT	0.010	0.010
Phytase ³	0.003	0.003
Inert	0.400	0.400
Total	100.000	100.000
Calculated nutritional composition	Corn-based diet	Wheat-based diet
Metabolizable energy (kcal/kg)	2850	2850
Crude protein (%)	15.618	15.938
Crude fiber (%)	2.206	2.420
Fat (%)	6.114	6.117
Calcium (%)	4.000	4.000
Available phosphorous (%)	0.340	0.340
Total phosphorous (%)	0.535	0.541
Sodium (%)	0.170	0.170
Digestible methionine (%)	0.406	0.400
Digestible lysine (%)	0.730	0.730
Digestible methionine + cystine (%)	0.530	0.661
Digestible threonine (%)	0.546	0.510
Digestible tryptophan (%)	0.173	0.182
Digestible isoleucine (%)	0.600	0.600
Digestible valine (%)	0.700	0.700
Digestible arginine (%)	0.949	0.903
Linoleic acid (%)	3.080	2.935

¹Ovotec Matriz P-3[®]: Minimum composition per kilo of product: Copper: 3330mg; Iron: 16.65g; Manganese: 33g; Selenium: 100mg; Zinc: 33.3g; Vitamin A: 4000800IU; Vitamin D3: 1000200IU; Vitamin E: 30000IU; Vitamin K3: 1674mg; Vitamin B1: 980.2mg; Vitamin B2: 4000 mg; Vitamin B6: 1633.7mg; Vitamin B12: 10000mcg; Folic acid: 1060mg; Pantothenic acid: 4980mg; Niacin: 16g; Biotin: 100mg; Choline: 140.6g; Iode: 660mg; ²MastersorbGold[®];

³Natuphos[®]: 10000 FTU.

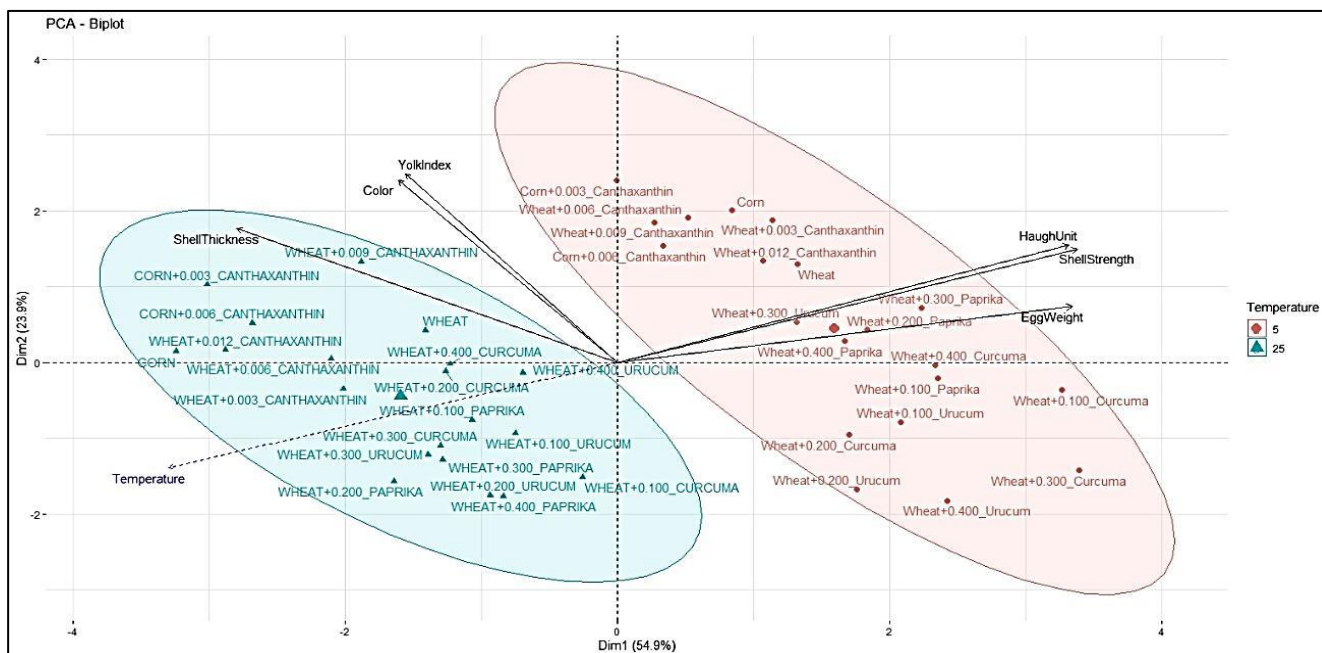


Figure 1. Representation of the clusters on the map induced by the first two main components in the evaluation of 20 experimental diets based on corn/wheat containing or not egg yolk pigmentants using storage temperature as a supplementary categorical variable. Legend: ● refers to eggs stored at a temperature of 5°C; and ▲ : refers to eggs stored at a temperature of 25°C.

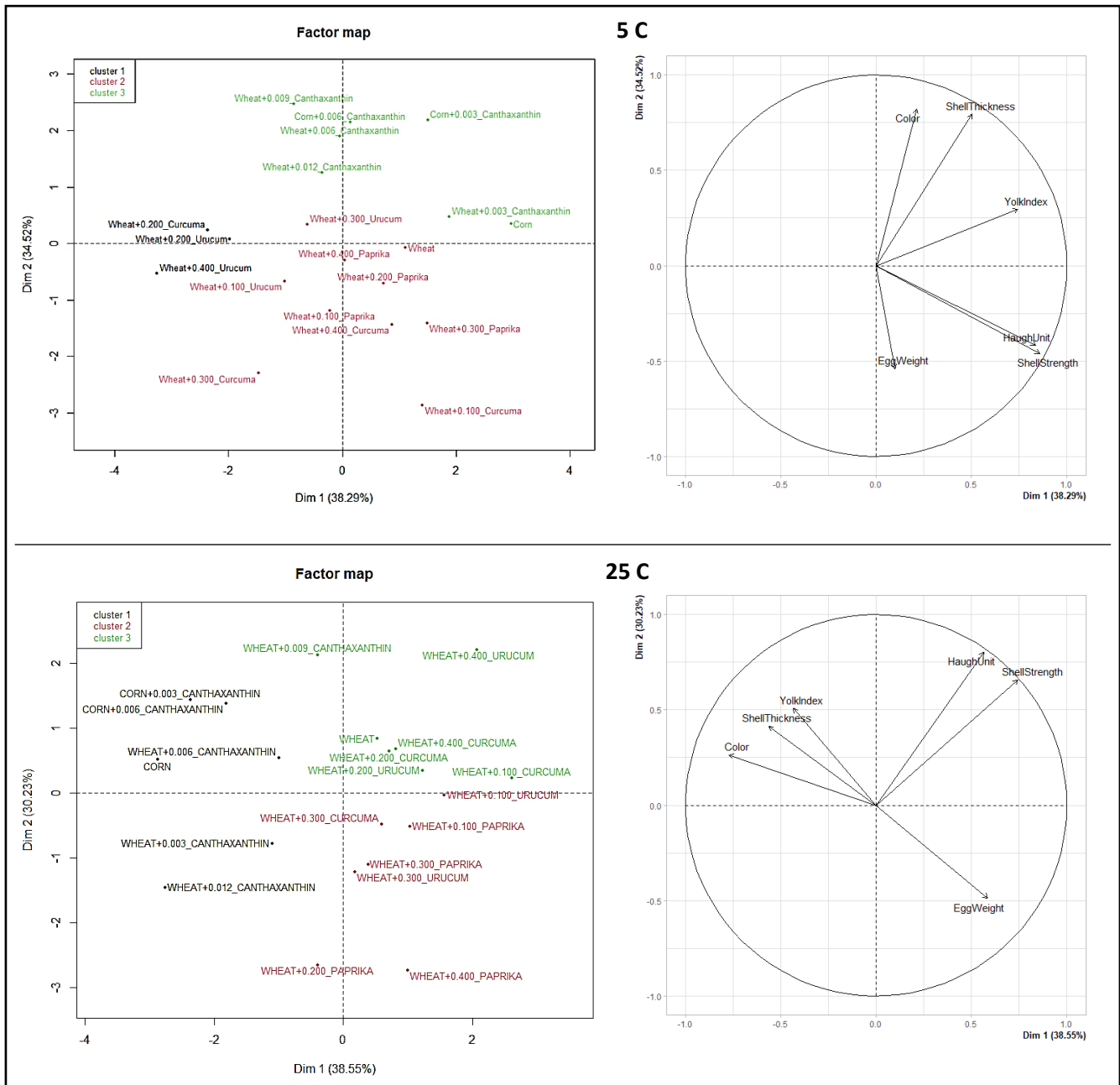


Figure 2. Representation of the clusters on the map induced by the first two main components in the evaluation of 20 experimental diets based on corn/wheat containing or not yolk pigmentants in eggs stored at 5°C and 25°C.

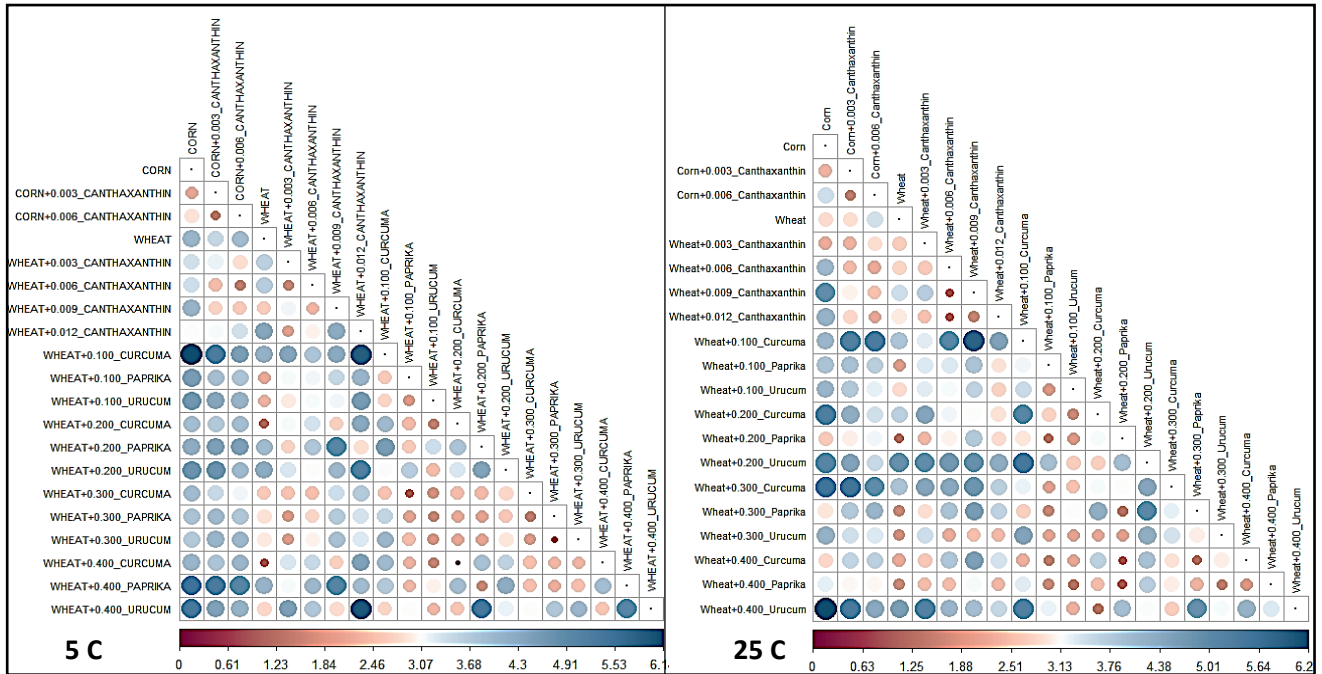


Figure 3. Graph of the dissimilarity resulting from the analysis of 20 treatments in eggs stored at 5°C and 25°C based on six response variables (egg weight, shell strength, *Haugh* unit, yolk index, shell thickness, yolk color). In the graph, the bluer, the greater the dissimilarity between the treatments, and the redder, the lower the dissimilarity between treatments.

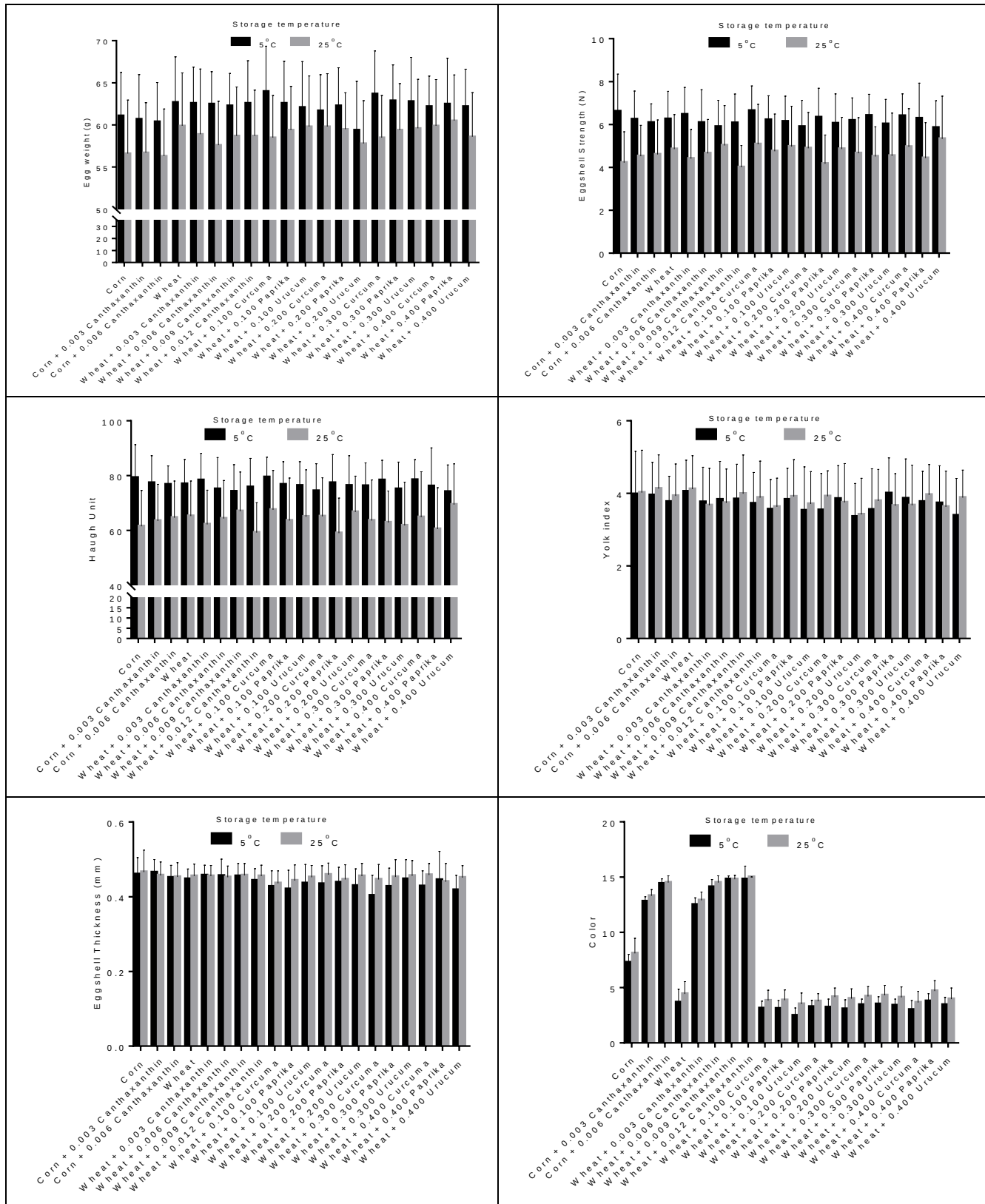


Figure 4. Descriptive statistics of egg weight, eggshell strength, *Haugh* unit, yolk index, eggshell thickness and yolk color according to experimental diets and storage temperature.

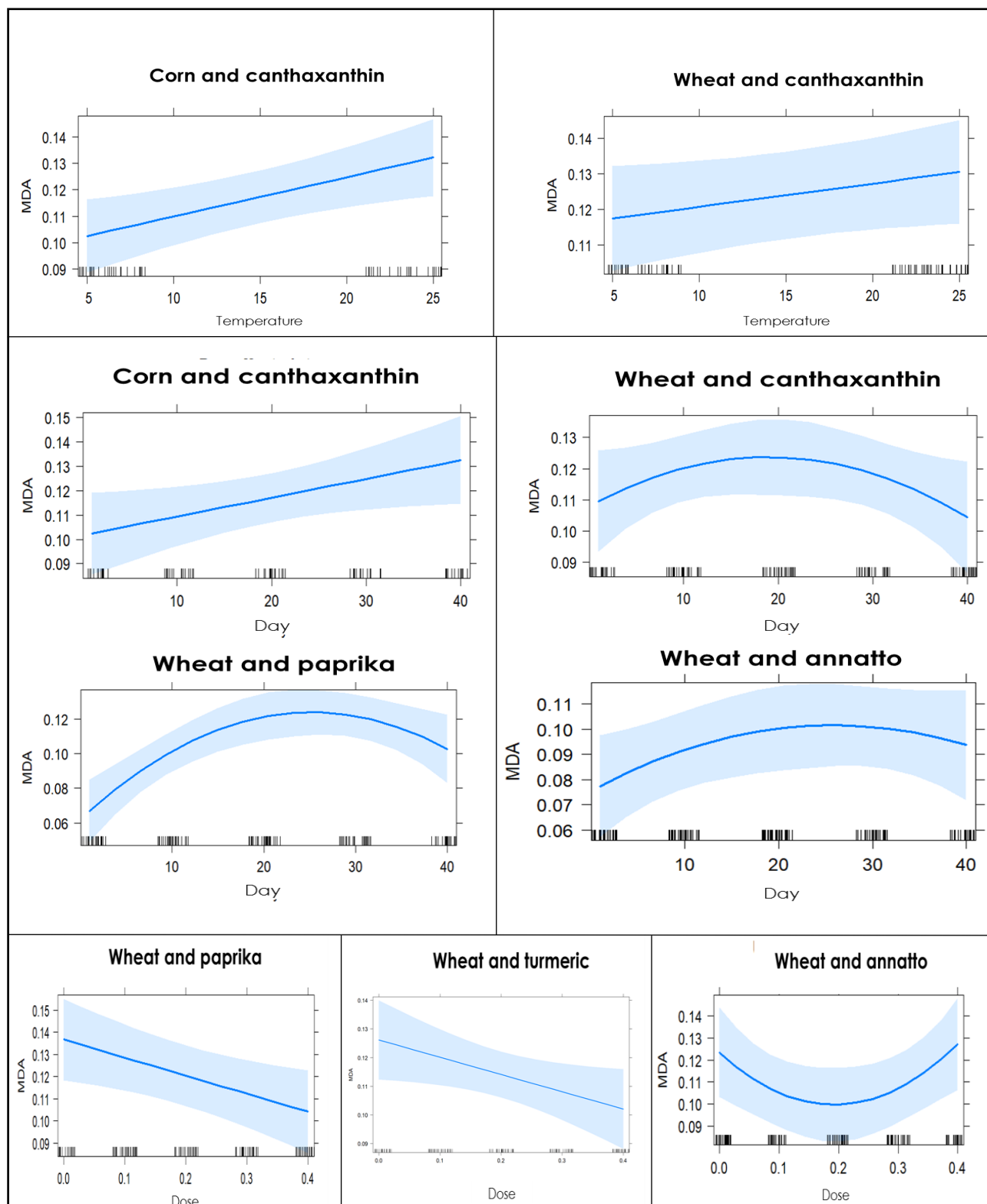


Figure 5. Estimates of MDA (mg/g of egg yolk) in relation to egg storage days, temperature, day and dose according to each pigment and diet used.

5 Conclusões gerais

Os resultados deste estudo comprovam que dietas à base de milho e farelo de soja atendem à preferência desejada pela cor da gema no Brasil, mesmo sem a adição de pigmentos.

A cor da gema é consistentemente maior nos tratamentos que receberam cantaxantina em comparação com os pigmentantes naturais, confirmando a eficiência superior do aditivo sintético.

A suplementação de cantaxantina, a partir de 0,003%, prova ser eficaz na intensificação da cor da gema em dietas contendo tanto trigo ou milho em apenas três dias após inclusão.

A inclusão de até 0,4% de cúrcuma, páprica ou urucum não possui capacidade de manter ou intensificar a cor da gema em dietas à base de trigo e farelo de soja.

A baixa eficácia da cúrcuma, páprica ou urucum em dietas contendo trigo pode ser atribuída à sua inclusão insuficiente nas dietas experimentais.

O padrão da unidade *Haugh* permanece consistente entre os tratamentos e tempos de suplementação, indicando que a suplementação de cantaxantina, cúrcuma, páprica ou urucum não afetam a qualidade da clara do ovo.

O índice da gema permanece dentro da faixa recomendada para boa qualidade em ovos frescos, independentemente do pigmento e cereal utilizado.

A substituição total de milho por trigo na dieta de poedeiras pode ser feita desde que suplementada com cantaxantina.

A temperatura de 25°C durante o armazenamento provoca efeito negativo para o peso do ovo, unidade *Haugh* e resistência da casca.

A cantaxantina, a cúrcuma, a páprica e o urucum apresentam efeito antioxidante sobre a peroxidação das gemas até 40 dias de armazenamento, independente da temperatura.

Os pigmentantes naturais se mostram mais eficientes para a estabilidade oxidativa das gemas quando os ovos são armazenados em alta temperatura.

Referências

- ABADI, S.; HUDA, M.; JASMI, K. A.; NOOR, S. S. M.; SAFAR, J.; MOHAMED, A. K.; EMBONG, W. H. W.; MOHAMAD, A. M.; HEHSAN, A.; BASIRON, B.; IHWANI, S. S.; MASELENO, A.; MUSLIHUDIN, M.; SATRIA, F.; IRAWAN, D.; HARTATI, S. Determination of the best quail eggs using simple additive weighting. **International Journal of Engineering & Technology**, v.7, p.225-230, 2018.
- ABBAS, B. A. Traditional and non-traditional feeds in poultry feeding: A review. **Radinka Journal of Science and Systematic Literature Review**, v.1, n.2, p.111-127, 2023.
- ABBAS, R. Z.; IQBAL, Z.; KHAN, M. N.; ZAFAR, M. A.; ZIA, M. A. Anticoccidial Activity of *Curcuma longa* L. in Broilers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53, p.63-67, 2010.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. RDC Nº 35. **Instruções obrigatórias para conservação e consume na rotulagem de ovos**. 2009. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2009/rdc0035_17_06_2009.pdf>. Acesso em 04 out. 2023.
- ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S. L. T. **Codornas: criação de codornas para produção de ovos e carne**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 289 p
- ALLEONI, A. C. C., ANTUNES, A. J. Unidade *Haugh* como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n.4, p.681-685, 2001.
- ALSHELMANI, M. I.; ABDALLA, E. A.; KAKA, U.; BASIT, M. A. **Nontraditional feedstuffs as an alternative in poultry feed**. In: Advances in Poultry Nutrition Research, IntechOpen, 2021.
- AMAYA, E.; BECQUET, P.; CARNÉ, S.; PERIS, S.; MIRALLES, P. **Carotenoids in animal nutrition**. 1. ed. Brussels:Fefana, 2014. 51p.
- AMBRÓSIO, C. L. B; CAMPOS, F. C.S; FARO, Z. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, v.19, n.2, p.233-243, 2006.
- ANTUNES, J. **Trigo, uma safra para ficar na história**. In: Notícias Embrapa. 2022. Disponível: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/77085844/trigo-uma-safra-para-ficar-na-historia>>. Acesso em: 13 jan. 2023.
- ANTUNES, J. **Trigo no alvo da indústria de proteína animal**. In: Notícias Embrapa. 2020. Disponível: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/58308218/trigo-no-alvo-da-industria-de-proteina-animal>>. Acesso em: 20 nov. 2021.

ANTUNES, J.; CARDOSO, L.S. **Cereais de inverno podem substituir o milho na alimentação de suínos e aves**. In: Notícias Embrapa. 2019. Disponível: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/56781287/cereais-de-inverno-podem-substituir-o-milho-na-alimentacao-de-suinos-e-aves>>. Acesso em: 20 nov. 2021.

ANTUNES, J.; CERON, A. **Programa incentiva os cereais de inverno em SC**. In: Notícias Embrapa. 2020. Disponível: <<https://www.embrapa.br/search-news/-/noticia/50260985/programa-incentiva-os-cereais-de-inverno-em-sc>>. Acesso em: 05 nov. 2021.

ARNHOLD, E. Package in the R environment for analysis of variance and complementary analyses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, p.488-492, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **Ovo caipira**. 2019. Disponível em: <<http://abnt.org.br/paginampe/biblioteca/files/upload/anexos/pdf/6004589acb595833bbccc9f09fa09f18.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório Anual 2022**. p.106, 2022.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório Anual 2023**. p.120-133, 2023a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Produção e exportação da avicultura e da suinocultura devem registrar alta em 2024**. 2023b. Disponível em: <<https://abpa-br.org/noticias/producao-e-exportacao-da-avicultura-e-da-suinocultura-devem-registrar-alta-em-2024-projeta-abpa/>>. Acesso em 22 jan. 2024.

AYED, M.; AÏSSA, A.; NOUMI, M. A comparative study between the effects of feed inclusion with garlic (*Allium sativum*), cloves and turmeric (*Curcuma longa*) rhizome powder on laying hens performance and egg quality. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v.8, n.4, p.693-701, 2018.

BAIAO, N. C.; MENDEZ, J.; MATEOS, J.; GARCIA, M.; MATEOS, G. G. Pigmenting Efficacy of Several Oxycarotenoids on Egg Yolk. **Journal of Applied Poultry Science**, v.8, p. 472-479, 1999.

BAMPIDIS, V.; AZIMONTI, G.; BASTOS, M. L.; CHRISTENSEN, H.; DUSEMUND, B.; DURJAVA, M. K. LOPEZ-ALONSO, M.; LOPEZ PUENTE, S.; MARCON, F.; MAYO, B.; PECHOVÁ, A.; PETKOVA, M. RAMOS, F.; SANZ, Y.; VILLA, R. E.; WOUTERSEN, R.; AQUILINA, G.; BORIES, G.; GROPP, J.; RENSHAW, D.; HOLCZKNECHT, O.; VETTORI, M. V.; KOUBA, M. Safety and efficacy of saponified paprika extract, containing capsanthin as main carotenoid source, for poultry for fattening and laying (except turkeys). **EFSA Journal**, v.18, n.2, 2020.

BERARDO, N.; BRENNAN, O. V.; AMATO, A.; VALOTI, P.; PISACANE, V.; MOTTO, M. Carotenoids concentration among maize genotypes measured by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, p.393-398, 2004.

BERTOL, T. M.; FILHO, J. I. S.; LUDKE, J. V.; TALAMINI, D. J. D. In: Determinação da equivalência trigo, tritica e milho na formulação de rações para suínos e aves. **Comunicado Técnico**, Embrapa Suínos e Aves, n.566, 20p. 2019.

BIAVATTI, H. A. Z.; ALVES, M. G.; MELLO, J. L. M.; SCHRAMM, V. G.; RECH, H.; SGAVIOLI, S. Efeito da inclusão de pigmentos naturais na dieta de frangos de corte no desempenho e na coloração da pele do peito. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, v.7, n.6, p.62197-62217, 2021.

BITTENCOURT, T. M.; LIMA, H. J. D.; VALENTIM, J. K.; MARTINS, A. C. S.; MORALES, D. D.; VACCARO, B. C. Distillers dried grains with solubles from corn in diet of japanese quails. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.41, p.1-7, 2019.

BLAIR, R. **Nutrition and feeding of organic poultry**. Wallingford, UK: Cabi, 2008. 314p.

BOCANEGRA, E.; OSPINA-OSORIO, X.; OVIEDO-RONDÓN, E.O. Evaluation of xanthophylls extracted from *Tagetes erectus* (Marigold flower) and *Capsicum* sp. (red pepper paprika) as a pigment for egg-yolks compare with synthetic pigments. **International Journal of Poultry Science**, v.3, p.685-689, 2004.

BÖHM, F.; EDGE, R.; LAND, E.J.; MCGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. G. Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency, **Journal of the American Chemical Society**, v.119, p.621-622, 1997.

BOTELHO, L. F. R.; MACIEL, M. P.; SILVA, M. L. F.; REIS, S. T.; ALVES, E. E.; AIURA, F. S.; MOURA, V. H. S.; SILVA, D. B. Níveis de açafrão (*Curcuma longa*) em rações para frangos de corte contendo sorgo em substituição ao milho. **Archivos de Zootecnia**, v.66, p.35-43, 2017.

BOU, R.; GUARDIOLA, F.; GRAU, A.; GRIMPA, S.; MANICH, A.; BARROETA, A.; CODONY, R. Influence of dietary fat source, α -tocopherol, and ascorbic acid supplementation on sensory quality of dark chicken meat. **Poultry Science**, v.80, p.1-8, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n 7, de 15 de agosto de 2001. Regulamento técnico de identidade e de qualidade do trigo. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p. 33-35, 2001.

BRAZ, N. M.; FUENTES, M. D. F. F.; FREITAS, E. R.; SUCUPIRA, F. F.; MOREIRA, R. F.; LIMA, R. C. Semente residual do urucum na alimentação de poedeiras comerciais: desempenho e características dos ovos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.29, p.1-10, 2007.

BREITHAUPT, D. E. Modern application of xanthophylls in animal feeding: A review. **Trends Food Science & Technology**, v.18, n.10, p.501-506, 2007.

BRULC, L.; SIMONOVSKA, B.; VOVK, I.; GLAVNIK, V. Determination of egg yolk xanthophylls by isocratic high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.1938, p.134-141, 2013.

BRUM, P. A. R. O trigo na alimentação de aves. **Avicultura Industrial**, v.90, n.1076, p.14-16, 2000.

CARNEIRO, J. S. **Pigmentantes de gema: novo método de avaliação de cor e caracterização da produtividade e saúde das poedeiras**. 2013. 104p. Tese. (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. 2013.

CARVALHO, F. B.; STRINGHINI, J. H.; JARDIM FILHO, R. S. M.; LEANDRO, N. S. M.; CAFÉ, M. B.; DEUS, H. A. S. B. Qualidade interna e da casca para ovos de poedeiras comerciais de diferentes linhagens e idade. **Revista Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.1, p.25-29, 2007.

CHATTOPADHYAY, I.; BISWAS, K.; BANDYOPADHYAY, U.; BANERJEE, R. K. Turmeric and curcumin: biological actions and medicinal applications. **Current Science**, v.87, p.44-50, 2004.

CHAVES, C. A. R.; MIRANDA, D. A.; GERALDO, A. MACHADO, L. C.; VALENTIM, J. K.; GARCIA, R. G. Natural and synthetic pigments in sorghum-based diets for laying hens. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.44, p.1-8, 2022.

CHERIAN, G.; WOLFE, F. W.; SIM, J. S. Feeding dietary oils with tocopherols: effects on internal qualities of eggs during storage. **Journal of Food Science**, v.61, p.15-18, 1996.

COÊLHO, J. D. **Trigo: produção e mercados**. Caderno Setorial ETENE - Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste, n.203, dez, 2021. 14p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Preços agropecuários**. 2024a. Disponível em: <<https://sisdep.conab.gov.br/precosiagroweb/>>. Acesso em 22 jan. 2024.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira- Grãos**. (Safra 2023/24 4º levantamento), v.11, n.4, 110p. jan/2024. 2024b.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira- Grãos.** (Safra 2022/23 4º levantamento), v.10, n.4, 82p. jan/2023. 2023.

COSTA, F. G; FIGUEIREDO, J; LIMA, D. Chlorine requirement for Japanese laying quails. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, n.41, p.2289-2293, 2012.

CRACKEL, R. L.; GRAY, J. I.; PEARSON, A. M.; BOOREN, A. M; BUCKLEY, D. J. Some further observation on the TBA test as index of lipid in meats. **Journal Food Chemistry**, p.187-196, 1988.

CRUZ, F. G. G.; MOTA, M. O. S. Efeito da temperatura e do período de armazenamento sobre a qualidade interna dos ovos comerciais em clima tropical úmido. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1996, Campinas. **Anais...**Trabalhos apresentados ao prêmio LAMMAS. Campinas: FACTA, 1996.

CUFADAR, Y.; YILDIZ, Ö.; OLGUN, O. Effects of xylanase enzyme supplementation to corn/wheat-based diets on performance and egg quality in laying hens. **Canadian Journal of Animal Science**. p. 207-212, 2010.

DSM - Guidelines for egg yolk pigmentation with Carophyll. **Comunicado Técnico**, 2014. Disponível em: <https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en_US/documents/CarophyllGuidelines2014_Web.pdf. > Acesso em: 09 out. 2021.

EDDIN, A. S.; IBRAHIM, S. A.; TAHERGORABI, R. Egg quality and safety with an overview of edible coating application for egg preservation. **Food Chemistry**, v.296, p.29-39, 2019.

ESATBEYOGLU, T.; RIMBACH, G. Canthaxanthin: From molecule to function. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.61, n.6, 2017.

EUROPEAN COMMISSION, COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2015/1486 of 2 September 2015 concerning the authorisation of canthaxanthin as feed additive for certain categories of poultry, ornamental fish and ornamental birds. **Official Journal of the European Union**, L 229, p.5-8. 2015.

FARUK, M. J; ROOS, F. F.; CISNEROS-GONZALES, F. A meta-analysis on the effect of canthaxanthin on egg production in brown egg layers. **Poultry Science**, v.97, p.84-87, 2018.

FASSANI, E. J.; ABREU, M. T.; SILVEIRA, M. M. B. M. Coloração de gema de ovo de poedeiras comerciais recebendo pigmentante comercial na ração. **Ciência Animal Brasileira**, v.20, p.1-10, 2019.

FEDDERN, V.; PRÁ, M. C.; MORES, R.; NICOLOSO, R. S.; COLDEBELLA, A.; ABREU, P. G. Egg quality assessment at different storage conditions, seasons and laying hen strains. **Ciência e Agrotecnologia**, v.41, n.3, p.322-333, 2017.

FLETCHER, D. L.; HALLO RAN, H. R. Egg yolk pigmenting properties of a marigold extract and paprika oleoresin in a practical type diet. **Poultry Science**, v.62, p.1205-1210, 1983.

FONTANELI, R. S.; DEL DUCA, L. J.; SANTOS, H. P.; CAIERÃO, E. Trigo de duplo propósito. In: Pires, J. L. F.; Vargas, L.; Cunha, G. R. **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Embrapa Trigo, p. 239-252, 2011.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **Egg Safety Final Rule**. 2018. Disponível em: <<http://bit.do/fda-eggs>>. Acesso em: 27 nov. 2023.

FRANCO, C. F. O.; FABRI, E. G.; BARREIRO NETO, M.; MANFIOLLI, M. H. HARDER, M. N. C.; RUCKER, N. C. A. **Urucum: sistemas de produção para o Brasil**. Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba, 2008. 112p.

FRANCO, C. F. O.; SILVA, F. C. P.; CAZÉ FILHO, J.; BARREIRO NETO, M.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; FONTINELLI, I. S. C. **Urucum: agronegócio de corantes naturais**. Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba, 2002. 120p.

FRANKEL, E. N. Lipid oxidation: Mechanism, products and flavor significance. **Journal of the American Chemical Society**, v.61, p.1908-1916, 1984.

FREITAS, L.; W.; PAZ, I.; C.; L.; A.; GARCIA, R.; G.; CALDARA, F.; R.; SENO, L.; O.; FELIX, G.; A.; LIMA, N.; D.; S.; FERREIRA, V.; M.; O.; S.; CAVICHIOLO, F.; Aspectos qualitativos de ovos comerciais submetidos a diferentes condições de armazenamento. **Revista Agrarian Dourados**, v.4, n.11, p.66-72, 2011.

FUNK, E. M. **Egg Science and Technology**. Westport, Connecticut, the AVI Publishing Company INC, 1973. 35p.

GALOBART, J.; BARROETA, A. C.; BAUCCELLS, M. D.; CORTINAS, L.; GUARDIOLA, F. α -tocopheryl transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with w3-polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, v.80, p.1496-1505, 2001.

GALOBART, J.; SALA, R.; RINCÓN-CARRUYO, X.; MANZANILLA, E. G.; VILÀ, B.; GASA, J. Egg yolk color as affected by saponification of different natural pigmenting sources. **Journal of Applied Poultry Research**, v.13, p.328-334, 2004.

GARCIA, E. A.; MENDES, A. A.; PIZZOLANTE, C. C.; GONÇALVES, H. C.; OLIVEIRA, R. P.; SILVA, M. A. Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.1, p.1-7, 2002.

GARCIA, E. A.; MOLINO, A. B.; BERTO, D. A.; PELÍCIA, K.; OSERA, R. H.; FAITARONE, A. B. G. Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais alimentadas com semente de urucum (*Bixa orellana* L.) moída na dieta. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, p.689-697, 2009.

GARCIA, E. R. M.; CRUZ, F. K.; SOUZA, R. P. P.; PELÍCIA, K.; OSERA, R. H.; FAITARONE, A. B. G. Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras alimentadas com semente de urucum. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v.18, p.17-20, 2015.

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

GIAMPIETRO, A.; SCATOLINI, A.M.; BOIAGO, M.M.; CORÓ, D. M. O.; SOUZA, H. B. A.; SOUZA, P. A.; LIMA, T. M. A.; PIZZOLANTE, C. C. Estudo da metodologia de TBARS em ovos. **Avisite**, n.13, p.18-18, 2008.

GOEL, A.; AJAIKUMAR, B. KUNNUMAKKARA, B. BHARAT, B.; AGGARWAL B. Curcumin as “Curecumin”: Fromkitchentoclinic. **Biochem Pharmacol**, v.75, n.4, p.787-809, 2008.

GONZÁLEZ, M.; CASTAÑO, E.; AVILA, E.; GONZÁLEZ E. Effect of capsaicin from red pepper (*Capsicum* sp.) on the deposition of carotenoids in egg yolk. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, p.1904-1908, 1999.

GOODWIN, T. W. **The compative biochemistry of carotenoids**. Champman and Hall: London, 1965, 365p.

GRASHORN, M. A. Feed additives for influencing chicken meat and egg yolk color. **Woodhead Publishing Series in Food Science**, p.283-302, 2016.

GRASHORN M. A.; STEINBERG W. Deposition rates of canthaxanthin in egg yolks. **European Poultry Science**, v.66, n.6, p.258-262, 2002.

GRUBBEN, G. J. H.; DENTON, O. A. **Plant Resources of Tropical Africa: Vegetables**. PROTA Foun ed. Wageningen, Netherlands: Backhuys Publishers, 2004.

GUMUS, H.; OGUZ, M.N.; BUGDAYCI, K.E.; OGUZ, F.K. Effects of Sumac and Turmeric as Feed Additives on Performance, Egg Quality Traits, and Blood Parameters of Laying Hens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.47, p.11-22, 2018.

GURBUZ, Y.; YASAR, S.; KARAMAN, M. Effects of addition of the red pepper from 4th harvest to corn or wheat based diets on egg-yolk colour and egg production in laying hens. **International Journal of Poultry Science**, v.2, p.107-111, 2003.

- HALLIWELL B. Oxidative stress, nutrition and health. **Free Radical Research**, v.25, p.57-74, 1996.
- HAMMERSHOJ, M.; KIDMOSE, U.; STEENFELD, S. Deposition of carotenoids in egg yolk by short-term supplement of coloured carrot (*Daucus carota*) varieties as forage material for egg-laying hens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.90, p.1163-1171, 2010.
- HANNIBAL, L.; LORQUIN, J.; D'ORTOLI, N. A.; GARCÍA, N.; CHAINTREUIL, C.; MASSON-BOIVIN, C.; DREYFUS, B.; GIRAUD, E. Isolation and characterization of canthaxanthin biosynthesis genes from the photosynthetic bacterium *Bradyrhizobium* sp. **Journal Bacteriology**, v.182; n.13, p.3850-3853, 2000.
- HARDER, M. N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V. Avaliação quantitativa por colorímetro digital da cor do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com urucum (*Bixa orellana*). **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.102, p.339-342, 2007.
- HAUGH, R. R. The *Haugh* unit for measuring egg quality. **United States Egg Poultry Magazine**, v.43, p.552-555, 1937.
- HAYAT, I.; AHMAD, A. MASUD, T.; AHMED, A.; BASHIR, S. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. **Critical reviews in food science and nutrition**, v.54, n.5, p.580-592, 2014.
- HENCKEN, H. Chemical and Physiological Behavior of Feed Carotenoids and Their Effects on Pigmentation. **Poultry Science**, v.71, p.711-717, 1992.
- HENDRIX GENETICS. **ISA Brown, commercial product Guide**. 2022. 71p.
- HERNANDEZ, J. M.; BLANCH, A. Perceptions of egg quality in Europe. **Internacional Poultry Production**, v.8, p.7-11, 2000.
- HUSSON, F.; JOSSE, J.; PAGES, J. Principal component methods-hierarchical clustering-partitional clustering: why would we need to choose for visualizing data? **Applied Mathematics Department**, v.17, 2010.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2023. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/lspa/tabelas>>. Acesso em: 10 jan. 2024.
- JI, S.; AHN, D. U.; SHAO, Y.; LI, K.; LI, S.; HUANG, X. An easy and rapid separation method for five major proteins from egg white: Successive extraction and MALDI-TOF-MS identification. **Food Chemistry**, v.315, n.126205, 2020.
- KHAN, R. U.; NAZ, S.; JAVDANI, M.; NIKOUSEFAT, Z.; SELVAGGI, M.; TUFARELLI, V.; LAUDADIO, V. The use of turmeric (*Curcuma longa*) in poultry diets. **Poultry Science**, v.68, p.97-103, 2012.

KIJPARKORN, S.; PLAIMAST, H.; WANGSOONOEN, S. Sano (*Sesbania javanica* Miq.) Flower as a Pigment Source in Egg Yolk of Laying Hens. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**, v.40, n.3, p.281-287, 2010.

KRINSKY, N. I. Carotenoids as antioxidants. **Nutrition**, v.17, p.815-817, 2001.

LAI, S. M.; GRAY, J. L.; FLEGA, C. J.; COOPER, T. Deposition of carotenoids in eggs from hens fed diets containing saponified and unsaponified oleoresin paprika. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.72, p.166-170, 1996.

LE, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **Journal of Statistical Software**, v.25, p.1-18, 2008.

LEDUR, M. C.; FIGUEIREDO E. A. P.; SCHMIDT, G. S.; AVILA, V. S.; PEIXOTO, J. O. **O melhoramento genético de aves no Brasil e as contribuições da Embrapa Suínos e Aves**. In: SOUZA, J. C.P. V. B.; TALAMINI, D. J. D.; SCHEUERMANN, G. N.; SCHMIDT, G. S. Sonho, desafio e tecnologia - 35 anos de contribuições da Embrapa Suínos e Aves. Concórdia, Santa Catarina, p.293-316, 2011.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P.. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostra microbiológica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.37, p.293-303, 2001.

LIU, Y. C.; CHEN, T. H.; WU, Y. C.; LEE, Y. C.; TAN, F.J. Effects of egg washing and storage temperature on the quality of eggshell cuticle and eggs. **Food Chemistry**, v.211, p.687-93, 2016.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. **Pharmacognosy Review**, v.4, n.8, p.118-126, 2010.

LOKAEWMANEE, K.; YAMAUCHI, K.; KOMORI T.; SAITO, K. Effects on egg yolk colour of paprika or paprika combined with marigold flower extracts, **Italian Journal of Animal Science**, v.9, n.4, 2010.

LOPES, I. R. V.; FREITAS, E. R.; LIMA, J. R.; VIANA NETO, J. L.; BEZERRA, R. M.; LIMA, R. C. Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo farelo de coco tratado ou não com antioxidante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2431-2438, 2011.

LOPES, L. C. K.; SANTOS, A. L.; AMORIM, A. B.; ANDREATTA, E.; ALVES, A. C.; ARAÚJO, I. G.; ARANTES, A. M. Cor da gema e qualidade de ovos de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) suplementadas com urucum e açafrão. **Zootecnia: tópicos atuais em pesquisa**, v.3, p.120-135, 2023.

MAIA, K. M.; GRIESER, D. O.; TON, A. P. S.; AQUINO, D. R.; PAULINO, M. T. F.; TOLEDO, J. B.; MARCATO, S. M. Performance and egg quality of light laying hens fed with canthaxanthin and marigold flower extract. **South African Journal of Animal Science**, v.52, p.433-443, 2022.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, n.5, p.727-747, 2004.

MANTOVANI, E. C. **Agricultura de precisão e sua organização no Brasil**. In: BORÉM, A. Agricultura de precisão. Viçosa: UFV, p.77-92, 2000.

MAOKA, T.; MOCHIDA, K.; KOZUKA, M.; ITO, Y.; FUJIWARA, Y.; HASHIMOTO, K.; ENJO, F.; OGATA, M.; NOBUKUNI, Y.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annum* L. **Cancer Letters**, v.172, p.103-109, 2001.

MARINHO, J. B. M.; ARRUDA, A. M. V.; FERNANDES, R. T. V.; MELO, A. S.; SOUZA, R. F.; SANTOS, L. O. G.; FIGUEIRÊDO, L. C.; FERNANDES, R. T. V.; MESQUITA, A.C.N. Uso da moringa na alimentação animal e humana: Revisão. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.10, n.8, p.619-627, 2016.

MARTÍNEZ, Y.; OROZCO, C. E.; MONTELLANO, R. M.; VALDIVIÉ, M.; PARRADO, C. A. Use of achiote (*Bixa orellana* L.) seed powder as pigment of the egg yolk of laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v.30, p.1-10, 2021.

MAZZUCO, H. Ovo: alimento funcional, perfeito à saúde. **Avicultura Industrial**, n.2, p.12-16, 2008.

MELO, A.; FERNANDES, R. T. V.; OLIVEIRA, V. R. M.; QUEIROZ, J. P. A. F.; DIAS, F. K. D.; SOUZA, R. F.; SANTOS FILHO, C. A. Características físico-químicas e sensoriais de aves e ovos. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.9, n.12, p.502-557, 2015.

MENDES, L. J.; MOURA, M. M. A.; MACIEL, M. P.; REIS, S. T.; SILVA, V. G.; SILVA, D. B.; MOURA V. H. S.; MENESES, I. M. A.; SAMPAIO J. L. S. Perfil do consumidor de ovos e carne de frango do município de Janaúba-MG. **Ars Veterinaria**, v.32, p.81-87, 2017.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Divisão de Inspeção de Carnes e Derivados: **Normas Gerais de Inspeção de Ovos e Derivados**. MAPA, Brasília, DF, Brazil, 1990.

MORALECO, D. D.; VALENTIM, J. K.; SILVA, L. G.; LIMA, H. J. D. Á.; BITENCOURT, T. M.; DALLAGO, G. M. Egg quality of laying hens fed diets with plant extracts. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.41, p.1-6, 2019.

MORI C. Aspectos comerciais e econômicos do trigo. In: Mori, C.; Antunes, J. M.; Fae, G.S.; Acosta, A. S. **Trigo: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Embrapa, p. 297-309, 2016.

MOURA, A. M. A.; MELO, T. V.; MIRANDA, D. J. A. Pigmentantes sintéticos para codornas japonesas alimentadas com rações à base de sorgo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, p.1007-1014, 2016.

MOURA, A. M. A.; TAKATA, F. N.; NASCIMENTO, G. R.; SILVA, A. F.; MELO, T. V.; CECON, P. R. Pigmentantes naturais em rações à base de sorgo para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.11, p.2443- 2449, 2011.

NABER, E. C. ALLRED, J. B.; WINGET, C. J.; STOCK, A. E. Effect of Cholesterol Oxidation Products on Cholesterol Metabolism in the Laying Hen. **Poultry Science**, v.64, n.4, p.675-680, 1985.

NASCIMENTO, V. P.; SALLE, C. T. P. **O ovo**. In: MACARI, M.; GONZALES, E. Manejo da incubação. 2. ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, p.34-50, 2003.

NELSON, T. S.; BAPTIST, J. N. Feedpigments: 2. The influence of feeding single and combined sources of red and yellow pigments on egg yolk colour. **Poultry Science**, v.47, n.3, p.924-931, 1968.

NUNES JUNIOR, D. A.; LIMA, H. J. D.; SOUZA, L. A. Z.; SILVA, N E. M.; MARTINS, A. C. S.; VALENTIM, J. K.; BITTENCOURT, T. M. Pigmentantes em dietas a base de milho e sorgo para aves comerciais. **Revista Brasileira de Nutrição Animal**, v.14, p.1-10, 2020.

OLIVEIRA, B. D.; OLIVEIRA, D. D. **Qualidade e tecnologia de ovos**. Lavras: Editora UFLA (Universidade Federal de Lavras). 2013. 223p.

OLIVEIRA, H. C.; OLIVEIRA, M. C.; ARANTES, U. M.; ARGYRI, E. T. A. Paprika and/or marigold extracts improve productivity and yolk color in egg-laying quails. **Ciência Animal Brasileira**, v.21, 2020.

OLIVEIRA, H. S. H.; RIBEIRO, A. G.; SILVA, D. A.; MACAMBIRA, G. M.; SANTOS, A. C. F.; RODRIGUES, M. R. S.; SILVA, M. F.; MOTA, M. A. A.; SILVA, J. M. S.; FERREIRA, M. L. S. Characterization and use of the carotenoid bixin, urucum seed extract (*Bixa orellana* L.) as a pigmenting agent in diets for non-ruminant animals. **Brazilian Journal of Development**, v.7, p.64481-64494, 2021.

OLIVEIRA, M.; LANG, G. H.; FERREIRA, C. D. **Milho: química, tecnologias e uso**. São Paulo: Blucher, 2022. 432p.

ORDÓÑEZ, J. A. Ovos e produtos derivados. In: **Tecnologia de alimentos: Alimentos de origem animal**. Porto Alegre, p.269-279, 2005.

PAPADOPOULOS, G. A.; CHALVATZI, S.; KOPECKÝ, J.; ARSENOS, G.; FORTOMARIS, P. D. Effects of dietary fat source on lutein, zeaxanthin, and total carotenoids content of the egg yolk in laying hens during the early laying period. **British Poultry Science**, v.60, p.431-438, 2019.

PARK, S. S.; KIM, J. M.; KIM, E. J.; KIM, H. S.; KIM, B.; KANG, C. W. Effects of Dietary Turmeric Powder on Laying Performance and Egg Qualities in Laying Hens. **Korean Journal Poultry Science**, v.39, p.27-32, 2012.

PAULINO, M. T. F.; GRIESER, D. O.; GASPARINO, E.; MAIA, K. M.; TOLEDO, J. B.; TON, A. P. S.; BUDEL, E. C.; MARCATO, S. M. Influence of pigments on the shelf life of eggs from layers hens in the final phase of production. **Research, Society and Development**, v.11, n.11, p.1-13, 2022.

PIRES, P. G. S.; BAVARESCO, C.; PIRES, P. D. S.; CARDINAL, K. M.; LEUVEN, A. F. R.; ANDRETTA, I. Development of an innovative green coating to reduce egg losses. **Cleaner Engineering and Technology**. v.2 , p.1-8, 2021.

PIRES, P. G. S.; PIRES, D. G. S.; CARDINAL, K. M.; BAVARESCO, C. The use of coating in eggs: a systematic review. **Trends in Food Science & Technology**, v.106, p.312-321, 2020.

PONZILACQUA, B.; CORASSIN, C. H.; OLIVEIRA, C. A. F. Antifungal activity and detoxification of aflatoxins by plant extracts: potential for food applications. **The Open Food Science Journal**, v.10, n.1, p.24-32, 2018.

PRESTON, H. D.; RICKARD, M. D. Extraction and chemistry of annatto. **Food Chemistry**, v.5, n.1, p.47-56, 1980.

RAMOS, B. F. S. **Gema de ovo composição em aminos biogénicas e influência da gema na fração volátil de creme de pasteleiro**. 2008.111p. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade) - Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal. 2008.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. 2022. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 10 jan. 2022.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. 2023. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 22 out. 2023.

RIASI, A.; KERMANS SHAHI, H.; MAHDAVI, H. Production Performance, Egg Quality and Some Serum Metabolites of Older Commercial Laying Hens Fed Different Levels of Turmeric Rhizome (*Curcuma longa*) Powder. **Journal Medical Plants Research**, v.6, p.2141-2145, 2012.

ROCHA, J. S. R.; BARBOSA, V. M.; LARA, L. J. C.; BAIÃO, N. C, CANÇADO, S. V.; LANA, A. M. Q.; POMPEU, M. A.; VASCONCELOS, R. J. C.; MACHADO, A. L. C.; MIRANDA, D. J. A.; FERNANDES, M. N. S.; MENDES P. M. M. Efeito do armazenamento e da cantaxantina dietética sobre a qualidade do ovo fértil e o desenvolvimento embrionário. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.3, p.792-800, 2013.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. 1ª ed. Washington: ILSI Human Nutrition Institute, 2001. 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **Harvest Plus handbook for carotenoid analysis**. Washington: International Food Policy Research Institute. 1ª ed. Cali: International Center for Tropical Agriculture, 2004. 58p.

ROSSI, M.; POMPEI, C. Changes in some egg components and analytical values due to hen age. **Poultry Science**, v.74, p. 152-160, 1995.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O.. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed., Viçosa: UFV, 2017. 488p.

SALAS-DURÁN, C.; EKMAY, R. D.; ENGLAND, J.; CERRATE, S.; COON, C. N. Effect of body weight and energy intake on body composition analysis of broiler breeder hens. **Poultry Science**, v.98, n.2, p.796-802, 2019.

SALEH, A. A.; GAWISH, E.; MAHMOUD, S. F.; ÂMBAR, K. ; AWAD, W.; ALZAWQARI, M. H.; SHUKRY, M.; ABDEL-MONEIM, E. Effect of natural and chemical colorant supplementation on performance, egg-quality characteristics, yolk fatty-acid profile, and blood constituents in laying hens. **Sustainability**, v.13, n.8, 2021.

SALMA, U.A., MIAH, G., TAREQ, K.M.A., MAKI, T., TSUJII, H. Effects of dietary *Rhodobacter capsulatus* on egg-yolk cholesterol and laying hen performance. **Poultry Science**. v.86, p.714-719, 2007.

SANDESKI, L .M.; PONSANO, E. H. G.; NETO, M.G. Optimizing xanthophyll concentrations in diets to obtain well-pigmented yolks. **Journal of Applied Poultry Research**, v.23, p.409-417, 2014.

SANTOS, M. S. V.; ESPÍNDOLA, G. B.; LÔBO, R. N. B.; FREITAS, E. R.; GUERRA, J. L. L.; SANTOS, A. B. E. Efeito da temperatura e estocagem em ovos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.3, p.513-517, 2009.

SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. Características dos Ovos. **Boletim Técnico**, Universidade Federal do Espírito Santo, 2007. 7p.

SARICA, M.; ONDER, H.; YAMAK U.S. Determining the most effective variables for egg quality traits of five hen genotypes. **International Journal of Agriculture And Biology**, v.14, p.235-240, 2012.

SARIYEL, V.; AYGUN, A.; COKLAR, H.; NARINC, D.; AKBULUT, M. Effects of prestorage application of gum Arabic Coating on the Quality of Table Eggs During Storage. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v.28, n.3, p.363-370, 2022.

SCATOLINI-SILVA, A. M.; BORBA, H.; GIAMPIETRO-GANECO, A.; LIMA, T. M. A.; DOURADO, R. C.; BERTON, M. P.; SOUZA, P. A. Características sensoriais de ovos armazenados em diferentes embalagens sob temperatura ambiente. **Archivos de Zootecnia**, v.62, n.240, p.543-553, 2013.

SEEMANN, M. Factors which influence pigmentation. **Cuxhaven**, n.24, p.20, 2000.

SHARP, P. F.; POWELL, C.K. Decrease in internal quality of hen's eggs during storage as indicated by the yolk. **Industrial & Engineering Chemistry**, v.22, p.909-910, 1930.

SILVA, F. A. M., BORGES, M. F. M., FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v.22, p.94-103, 1999.

SILVA, I. J. O.; BUSS, L. P. Sistemas de produção de galinhas poedeiras no Brasil. **Diálogos: União Europeia**, Brasil, p.40, 2019.

SILVA, J. H. V.; ALBINO, L. F. T.; GODÓI, M. J. S. Efeito do extrato de urucum na pigmentação da gema dos ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1435-1439, 2000.

SPADA, F. P.; BRAZACAI, S. G. C.; COELHO, A. D.; SAVINO, V. J. M.; FRANÇA, L. C.; CORRER, E.; MARTINS, E.; FISCHER, F. S.; LEMES, D. E. A. Adição de carotenoides naturais e artificiais na alimentação de poedeiras: efeitos na qualidade de ovos frescos e armazenados. **Ciência Rural**, v.42, n.2, 2012.

SPASEVSKI, N. J.; DRAGOJLOVIC, D. M.; COLOVIC, D. S.; VIDOSAVLIJEVIC, C. S.; PEULIC, T. A.; RAKITA, S. M.; KOKIC, B. M. Influence of dietary carrot and paprika on egg physical characteristics and yolk color. **Food and Feed Research**, v.45, p.59-66, 2018.

STADELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J. **Egg science and technology**. 2.ed. Westport: Avi Publishing Company, 1977. 323p.

STEMPKOWSKI, L. A.; MAR, T. B.; PEREIRA, F. S.; SANTOS, A. K. A.; VALENTE, J. B.; LAU, D.; CASA, R. T.; SILVA, F. N. Virose em trigo no Brasil: uma visão histórica. **Revisão Anual de Patologias de Plantas**, v.28, p.102-135, 2022.

TARLADGIS, B. G.; PEARSON, A. M.; DUGAN JUN L. R. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods - formation of the tba-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.15, p.602-607, 1964.

THIMÓTHEO, M. **Duração da qualidade de ovos estocados de poedeiras criadas no sistema cage-free**. 2016. 55p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista. 2016.

TITCOMB T. J., KAEPLER M. S., COOK M. E., SIMON P. W., TANUMIHARDJO S. A. Carrot leaves improve color and xanthophyll content of egg yolk in laying hens but are not as effective as commercially available marigold fortificant. **Poultry Science**, v.98, p.5208-5213, 2019.

TOPUZ, A.; OZDEMIR, F. Influences of gamma-irradiation and storage on the carotenoids of sun-dried and dehydrated paprika. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.4972-4978, 2003.

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E. T. Teste de TBA: ranço em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, v.243, n.5, p.68-76, 1997.

TULI, H. S.; CHAUDHARY, P.; BENIWAL, V.; SHARMA, A. K. Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives. **Journal of Food Science and Technology**, v.52, p.4669-4678, 2015.

UNDERWOOD, G.; ANDREWS, D.; PHUNG, T. Advances in genetic selection and breeder practice improve commercial layer hen welfare. **Animal Production Science**, v.61, p.856-866, 2021.

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **Brazil: Wheat production**. 2024. Disponível em: <https://ipad.fas.usda.gov/rssiws/al/crop_production_maps/Brazil/Municipality/Brazil_Wheat.png>. Acesso em: 05 jan. 2024.

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **Shell eggs from farm to table**. 2019. Disponível em: <<http://bit.do/usdaegg>> Acesso em: 17 nov. 2023.

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **Egg grading manual**. 2000. Disponível em: <<https://www.ams.usda.gov/grades-standards/egg-grading-manual>>. Acesso em: 14 jan. 2023.

VALENTIM, J. K.; BITTENCOURT, T. M.; LIMA, H. J. D.; BARROS, F. K. Q.; PEREIRA, I. D. B.; SILVA, N. E. M.; ALMEIDA, G. R.; ZIEMNICZAK, H. M. Natural and synthetic pigments in diet of Japanese quails. **Acta Scientiarum, Animal Sciences**, v.42, 2020.

VALENTIM, J. K.; BITTENCOURT, T. M.; LIMA, H. J. D.; MORALECO, D. D.; TOSSUÊ, F. J. M.; SILVA, N. E. M.; VACCARO, B. C.; SILVA, L. G. Pigmentantes vegetais e sintéticos em dietas de galinhas poedeiras Negras. **Boletim de Indústria Animal**, v.76, p.1-9, 2019.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.39, p. 44-84, 2007.

VINUS, R. D.; DALAL, R.; SHEORAN, N.; MAAN, N. S.; TEWATIA, B. S. Potential benefits of herbal supplements in poultry feed: A review. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v.7, p.651-656, 2018.

VLČKOVÁ, J; TUMOVÁ, E.; MÍKOVÁ, K.; ENGLMAIEROVÁ, M.; OKROUHLÁ, M.; CHODOVÁ, D. Changes in the quality of eggs during storage depending on the housing system and the age of hens. **Poultry Science**, v.98, n.11, p.6187-6193, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Global strategy on diet, physical activity and health**. 2004. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9241592222>>. Acesso em: 13 out. 2023.

YESILBAG, D.; GEZEN, S. S.; BIRICIK, H.; MERAL, Y. Effects of dietary rosemary and oregano volatile oil mixture on quail performance, egg traits and egg oxidative stability. **British Poultry Science**, v.54, n.2, p.231-237, 2013.

YÜCEER, M.; CANER, C. Antimicrobial lysozyme-chitosan coatings affect functional properties and shelf life of chicken eggs during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.94, n.1, p.153-162, 2014.

ZIGGERS D. Astaxantina: Un corante y ademas saludable. **Avicultura Professional**, v.20, n.8, p.12-13, 2000.