

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE E POEDEIRAS COMERCIAIS

Autor: Humberto Marques Lipori
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alice Eiko Murakami
Coorientador: Dr. Ivan Camilo Ospina-Rojas

MARINGÁ
Estado do Paraná
Março - 2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE E POEDEIRAS COMERCIAIS

Autor: Humberto Marques Lipori
Orientadora: Prof.^a. Dr.^a Alice Eiko Murakami
Coorientador: Dr. Ivan Camilo Ospina-Rojas

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Março – 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

L764a Lipori, Humberto Marques
Aditivos fitogênicos na alimentação de frangos de corte e poedeiras comerciais / Humberto Marques Lipori. -- Maringá, 2019.
xviii, 70 f. : il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alice Eiko Murakami.
Coorientador: Prof. Dr. Ivan Camilo Ospina-Rojas.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2019.

1. Frango de corte - Alimentação - Aditivos Fitogênicos. 2. Frango de corte - Morfometria intestinal. 3. Poedeiras comerciais - Alimentação - Aditivos fitogênicos. 4. Aves - Desempenho produtivo. I. Murakami, Alice Eiko, orient. II. Ospina-Rojas, Ivan Camilo. II. Ospina-Rojas, Ivan Camilo. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 23.ed. 636.51

Síntique Raquel de C. Eleuterio - CRB 9/1641




UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE E POEDEIRAS COMERCIAIS


Autor: Humberto Marques Lipori
Orientadora: Prof^ª Dr^ª Alice Eiko Murakami

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal


APROVADO em 25 de fevereiro de 2019.



Prof^ª Dr^ª Maria Marta Loddi



Prof^ª Dr^ª Tatiana Carlesso dos
Santos



Prof^ª Dr^ª Alice Eiko Murakami
Orientadora

*“Não é sobre chegar
No topo do mundo e saber que venceu
É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu
É sobre ser abrigo
E também ter morada em outros corações
E assim ter amigos contigo em todas as situações”*

Trem bala (Ana Vilella)

À minha mãe,

Eliana de Oliveira Marques,

por todo amor, conselhos, amor e toda sua dedicação que me ajudaram a definir meu caráter, que isso é a minha maior riqueza. Em toda a minha vida foi a sua voz que me mostrou o caminho certo a seguir. Você sempre será meu exemplo de vida, no qual eu me espelho em todos os sentidos.

Ao meu pai,

Valdir Lipori,

mesmo não podendo me acompanhar nestes últimos anos, obrigado por mostrar que nessa vida tudo é possível, basta ter um pouquinho de esperança. Sua superação e persistência de vida me motiva e dão forças para seguir a vida.

Aos meus irmãos,

Lincon e Tiago,

pelas forças depositadas em mim, por muitas vezes fazerem o papel de pai, e por estarem sempre ao meu lado, independente da situação.

À minha companheira,

Mariani Ireni Benites,

por todo amor, incentivos, compreensão, ajuda, paciência e companheirismo prestado. Você é uma presença divina.

Com muito amor e carinho, dedico!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar forças para viver e iluminar os meus caminhos, pois o Senhor já me provou que estás sempre ao meu lado e permitir que eu realize meus sonhos.

À minha orientadora Professora Dr.^a Alice Eiko Murakami, por me dar oportunidade de realizar meus projetos desde a graduação, e continuar no mestrado. Isso me fez crescer muito, tanto profissional quanto pessoal. Lhe agradeço muito, pela confiança, orientação e seu exemplo de dedicação. Obrigado de coração.

Ao meu coorientador Dr. Ivan Camilo Ospina-Rojas, por sua amizade, companheirismo, e por toda sua ajuda prestada e orientação. E a Dr.^a Márcia Izumi Sakamoto, pelo exemplo de pessoa, amizade, paciência, sabedoria e ajuda prestada. Lhe considero como minha coorientadora, só não está no papel. Agradeço muito vocês.

À Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por ter possibilitado a minha formação acadêmica e a realização deste projeto.

Ao CNPq, pelo fornecimento da bolsa de estudos durante o período de realização deste mestrado.

A todos os professores do Departamento de Zootecnia, em especial às Professoras Dras. Paula Toshimi Matumoto Pintro e Tatiana Carlesso dos Santos e ao Professor Dr. Paulo César Pozza, pelos ensinamentos e contribuição para realização deste trabalho.

A todos que compõem o Grupo de Pesquisa em Nutrição de Aves: Kazuo, Caio, Kelly, Ana, Alisson, Ester, Wellington, Elison, Pedro, Carol e até aqueles que não fazem mais parte do grupo, Cristiane, Mayra, Mirian e Marília. Obrigado por toda ajuda

prestada, por todo companheirismo, levarei a amizade para a vida inteira. A colaboração e dedicação de vocês contribuiu muito para o meu trabalho, sem vocês os trabalhos não teriam sido possíveis.

A todos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, em especial ao “Seu Toninho” pela sua amizade, pelas conversas e sua ajuda durante todos os trabalhos. À técnica de laboratório do LANA, Angélica, e às técnicas do laboratório de histologia, Maria Ângela e Maria dos Anjos. Obrigado pela ajuda e ensinamentos.

E aos meus amigos, obrigado pelo companheirismo, amizade, apoio e por estarem comigo nos momentos bons e difíceis.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA

Humberto Marques Lipori, filho de Valdir Lipori e Eliana de Oliveira Marques, nasceu em São Caetano do Sul, São Paulo, no dia 31 de julho de 1991.

Em 2011 iniciou no curso de graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá, concluindo em fevereiro do ano de 2016.

Em março de 2016, iniciou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção e Nutrição Animal, na Universidade Estadual de Maringá, Paraná – Brasil.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	ix
LISTA DE TABELAS	ixi
LISTA DE FIGURAS	xiv
RESUMO	xv
ABSTRACT	xviii
I – INTRODUÇÃO	1
1.1. REVISÃO DE LITERATURA	2
1.1.1. Aditivos na alimentação de aves	2
1.1.1.2. Erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i>)	3
1.1.1.3. Chá-verde (<i>Camellia sinensis</i>)	4
1.1.1.4. Hibisco (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	5
1.1.1.5. Estévia (<i>Stevia Rebaudiana</i>)	5
1.1.2. Oxidação lipídica e ação antioxidante	7
1.1.3. Ação antimicrobiana e imunomodulatória	10
REFERÊNCIAS	12
II – OBJETIVOS GERAIS	17
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
III – ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL	18
RESUMO	18
ABSTRACT	19
INTRODUÇÃO	20
MATERIAL E MÉTODOS	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34
IV – ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NA FASE FINAL	38
RESUMO	38
ABSTRACT	39
INTRODUÇÃO	40
MATERIAL E MÉTODOS	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	53

V – ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS.....	56
RESUMO.....	56
ABSTRACT.....	57
INTRODUÇÃO.....	58
MATERIAL E MÉTODOS.....	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
CONCLUSÃO.....	68
REFERÊNCIAS.....	68
VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS

- A:** Radical inerte
- AGE:** Ácido gálico equivalente
- AH:** Antioxidante com um átomo de hidrogênio
- AMDs:** Antimicrobianos melhoradores de desempenho
- BHA:** butilhidroxianisol
- BHT:** butilhidroxitolueno
- CEUA:** Comissão de ética no uso de animais
- cm:** Centímetro
- CONA:** Concanavalina A
- CRA:** Capacidade de retenção de água
- EDTA:** Ácido etilenodiamino tetra-acético
- EGCG:** Epigallocatequina galato
- ELISA:** Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- EM:** Energia metabolizável
- EROs:** Espécie reativa de oxigênio
- FEI:** Fazenda Experimental de Iguatemi
- g:** Grama
- GLUT-4:** Glucose transporter 4
- HDL:** High density lipoprotein
- IgA:** Imunoglobulina A
- IL-8:** Interleucina 8
- Kcal:** Quilocalorias
- kg:** Quilogramas
- L:** Linear

LDL: Low density lipoproteins
MDA: Malonaldeído
mg: Miligramas
ml: Mililitro
nm: Nanómetro
PG: Propil galato
PUFA: Ácidos graxos poli-insaturados
Q: Quadrática
R: Radical livre
RH: Ácido graxo livre
ROO: Radical peróxido
ROOH: Radical hidroperóxido
RPM: Revoluções por minuto
SAS: Statistical Analysis System
TBA: Ácido tiobarbitúrico
TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substance
TBHQ: terc-butilhidroquinona
T3: Triiodotironina
UEM: Universidade Estadual de Maringá
UH: Unidade Haugh
UI: Unidade internacional
µm: Micrômetros

LISTA DE TABELAS

III - ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL

Tabela 1. Composição porcentual e calculada da dieta controle para frangos de corte, desempenho médio, de 1 a 21 dias de idade. 22

Tabela 2. Concentração de compostos fenólicos e flavonoides (mg eq. AG/100g de amostra) dos aditivos fitogênicos. 23

Tabela 3. Desempenho (média \pm desvio padrão) de frangos de corte, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas durante a fase de 1 a 21 dias de idade. 26

Tabela 4. Perfil bioquímico sérico (mg/dL) (média \pm desvio padrão) de frangos de corte, aos 21 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas. 27

Tabela 5. Peso relativo dos órgãos (%) e comprimento do intestino delgado (cm) (média \pm desvio padrão) de frangos de corte com 21 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas. 28

Tabela 6. Altura de vilo (μm), profundidade de cripta (μm) e relação vilo:cripta (média \pm desvio padrão) de frangos de corte aos 21 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas. 29

Tabela 7. Contagem diferencial de leucócitos (%), relação H/L e título de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle (média \pm desvio padrão) de frangos de corte aos 21 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas. 31

Tabela 8. Reação interdigital a fitohemaglutinina (mm) em frangos de corte com 21 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas. 33

IV - ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NA FASE FINAL

Tabela 1. Composição porcentual e calculada da dieta controle para frangos de corte, desempenho regular-médio, de 21 a 42 dias de idade 41

Tabela 2. Concentração de compostos fenólicos e flavonoides (mg eq. AG/100g de amostra) dos aditivos fitogênicos.. 42

Tabela 3. Desempenho (média \pm desvio padrão) de frangos de corte suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas durante a fase de 21 a 42 dias de idade..... 45

Tabela 4. Perfil bioquímico sérico (mg/dL) (média \pm desvio padrão) de frangos de corte, aos 42 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas. 46

Tabela 5. Peso relativo dos órgãos, gordura abdominal e comprimento do intestino delgado (média \pm desvio padrão) de frangos de corte, aos 42 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas. 47

Tabela 6. Desdobramento da interação entre aditivos e níveis de suplementação dos fitogênicos nas dietas, para porcentagem de gordura abdominal de frangos de corte com 42 dias de idade..... 47

Tabela 7. Características de qualidade da carne, pH e capacidade de retenção de água (CRA), (média \pm desvio padrão) em frangos de corte com 42 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.. 49

Tabela 8. Valores de malonaldeído (mg/kg) da carne da coxa de frangos de corte com 42 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas. 51

V - ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS

Tabela 1. Composição porcentual e calculada da dieta controle de poedeiras comerciais com 33 semanas de idade..... 58

Tabela 2. Concentração de compostos fenólicos e flavonoides (mg eq. AG/100g de amostra) dos aditivos fitogênicos.	59
Tabela 3. Desempenho (média \pm desvio padrão) de poedeiras comerciais, suplementadas com aditivos fitogênicos nas dietas.	61
Tabela 4. Qualidade dos ovos (média \pm desvio padrão) de poedeiras comerciais alimentadas, suplementadas com aditivos fitogênicos nas dietas.	62
Tabela 5. Perfil bioquímico sérico (mg/dL) (média \pm desvio padrão) de poedeiras comerciais, suplementadas com aditivos fitogênicos nas dietas.	63
Tabela 6. Valores de malonaldeído (mg/kg) em gema de ovos de poedeiras comerciais, suplementadas com aditivos fitogênicos nas dietas.	64
Tabela 7. Desdobramento da interação entre tratamentos e dias de armazenamento para valores de malonaldeído (mg/kg) em gema de ovos de poedeiras comerciais, alimentadas com dietas contendo aditivos fitogênicos.	65
Tabela 8. Desdobramento da interação entre ambiente e dias de armazenamento para valores de malonaldeído (mg/kg) em gema de ovos de poedeiras comerciais, alimentadas com dietas contendo aditivos fitogênicos.	65

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mecanismo geral da autoxidação lipídica (adaptado de Farmer et al., 1942).....5
- Figura 2.** Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido por espectrofotômetro.....6
- Figura 3.** Mecanismo de ação para os antioxidantes primários (Frankel, 1980).....6

RESUMO

Foram realizados três experimentos para avaliar a adição de fitogênicos (erva-mate, folhas de chá verde, hibisco e estévia) na alimentação de frangos de corte, na fase de 1 a 21 dias (Experimento I) e de 21 a 42 dias (Experimento II), e poedeiras comerciais (Experimento III). No experimento I, foi avaliado o desempenho, perfil bioquímico sérico, morfometria intestinal, peso relativo dos órgãos e sistema imune, na fase de 1 a 21 dias de idade. Foram utilizados 700 frangos de corte Cobb[®] machos (1 dia de idade), distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos: Controle (isenta de aditivo); Erva-mate 0,5%; Chá verde 0,5%; Hibisco 0,5% e Estévia 0,5%, com sete repetições e 20 aves por unidade experimental. A suplementação dos fitogênicos, não influenciaram ($P>0,05$) o ganho de peso e consumo de ração. Entretanto, a erva-mate apresentou melhor conversão alimentar ($P<0,05$) em relação ao tratamento controle. Não foi observado efeito ($P>0,05$) com a suplementação dos fitogênicos sobre o perfil bioquímico sérico, peso relativo dos órgãos do trato gastrointestinal e linfoides, e comprimento do intestino. A suplementação de erva-mate apresentou maior relação vilocripta no jejuno ($P<0,05$), quando comparado ao tratamento controle. Para a resposta imune celular, mediada pela fitohemaglutinina, houve interação ($P<0,05$) entre os fitogênicos e tempo de reação. No tempo de 24 horas pós-inoculação, a suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco apresentaram ($P<0,05$) menor reação inflamatória em comparação ao tratamento controle e a estévia. E no período de 48 horas, mantiveram a mesma relação, com menores valores de reação inflamatória com a suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco. Os fitogênicos proporcionaram menor ($P<0,05$) número de heterófilos e menor relação H/L em relação ao tratamento controle. Com a suplementação de chá verde e hibisco, houve maior ($P<0,05$) título de anticorpos em relação ao controle, não diferindo da erva-mate e estévia. Em conclusão, o uso dos fitogênicos como aditivos, ao nível de 0,5%, na alimentação de frangos de corte durante a fase de 1 a 21 dias de idade podem melhorar a morfometria intestinal, podendo diminuir conversão alimentar. Do mesmo modo, a erva-mate, chá verde, hibisco e a estévia, podem reduzir o estresse das aves por seus conhecidos efeitos anti-inflamatórios, como mostrou a redução na relação H/L. Além disso, o chá verde e o hibisco podem ser aditivos importantes para melhorar o sistema imune humoral. No experimento II, foi avaliado o desempenho, perfil bioquímico sérico, peso dos órgãos, qualidade e oxidação lipídica da carne, na fase de 21 a 42 dias de idade. Foram utilizados 1134 frangos de corte Cobb[®] machos, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $4 \times 2 + 1$ (fitogênicos x níveis + controle) totalizando 9 tratamentos, com sete repetições e 18 aves por unidade experimental. Os níveis avaliados dos fitogênicos foram de 0,5 e 1,0% de suplementação.

Não houve interação ($P < 0.05$) entre os aditivos e os níveis dos fitogênicos, para os parâmetros avaliados, com exceção para a porcentagem de gordura abdominal. Ao aumentar o nível de suplementação do chá verde para 1,0% houve menor porcentagem de gordura abdominal ($P < 0.05$) e avaliando os aditivos ao nível de suplementação de 1,0%, houve menor valor para o chá verde comparado com a estévia. A suplementação de chá verde diminuiu ($P < 0.05$) o consumo de ração e o ganho de peso das aves, comparado com a erva-mate e a estévia, todavia não diferiu do hibisco. Entretanto, não foi observado diferença para conversão alimentar. Não foi observado efeito dos aditivos fitogênicos sobre o perfil bioquímico sérico, peso relativo dos órgãos do trato gastrointestinal e comprimento do intestino. Contudo, foi observado maior CRA com a suplementação de erva-mate e chá verde, e maior valor com a suplementação dos aditivos ao nível de 1,0%. Para os valores de malonaldeído, a suplementação de erva-mate e chá verde ao nível de 1,0% diminuiu os valores em relação ao tratamento controle. Em conclusão, a suplementação de 1,0% de erva-mate, chá verde e hibisco nas dietas de frangos de corte durante a fase final, pode diminuir o consumo de ração e ganho de peso, embora não alteram a conversão alimentar. Todavia, a suplementação de erva-mate e chá verde melhoram a qualidade da carne e ao nível de 1,0% de suplementação reduz a oxidação lipídica da carne. No experimento III, foi avaliado o desempenho produtivo, perfil bioquímico sérico, qualidade dos ovos e oxidação lipídica do ovo. Foram utilizadas 320 poedeiras comerciais (33 semanas de idade), Hy-Line W36, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, divididos em cinco tratamentos: Controle (isenta de aditivo); Erva-mate 0,5%; Chá verde 0,5%; Hibisco 0,5% e Estévia 0,5%, com oito repetições e oito aves por unidade experimental. O desempenho produtivo foi avaliado durante 4 ciclos de 21 dias cada, e a qualidade dos ovos foi avaliada nos quatro últimos dias de cada ciclo. A suplementação dos fitogênicos nas dietas não alteraram ($P > 0,05$) o desempenho produtivo, perfil bioquímico sérico, peso do ovo, espessura de casca e Unidade Haugh. Porém, observou-se menor ($P < 0,05$) porcentagem de casca dos ovos das aves que receberam suplementação de chá verde, quando comparado com o tratamento controle e a estévia. A oxidação lipídica dos ovos foi realizada sob um esquema fatorial $5 \times 6 \times 2$ (5 tratamentos \times 6 períodos de armazenamento \times 2 ambientes). Houve interação ($P < 0,05$) entre tratamentos e períodos de armazenamento, para os valores de malonaldeído, avaliado pelo método de TBARS, nas gemas, apresentando menores valores para os tratamentos suplementados com erva-mate, chá verde e hibisco comparados com o controle, nos dias 0, 5 e 10 de armazenamento, independente do ambiente de armazenamento. Em conclusão, a adição dos fitogênicos em pó na alimentação de poedeiras comerciais ao nível de 0,5% ou 5 g/kg de dieta, não alteraram os parâmetros de desempenho. No entanto, a suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco nas dietas das aves, podem diminuir a oxidação lipídica do ovo.

Palavras-chave: antioxidantes, antimicrobiano, desempenho, qualidade de carne, qualidade do ovo.

ABSTRACT

Three experiments were carried out to evaluate the phytogetic plants (yerba-mate, green tea, hibiscus and stevia) addition to broiler chickens from 1 to 21 days (Experiment I) and from 21 to 42 days (Experiment II), and laying hens (Experiment III). In the experiment I, the growth performance, serum biochemical profile, relative organ weight, intestinal morphometry and immune system were evaluated in the phase of 1 to 21 days of age. A total of 700 broilers Cobb® male (1 day old), distributed in a completely randomized design with five treatments: control (free of additive); Yerba-mate 0.5%; Green tea 0.5%; Hibiscus 0.5% and Stevia 0.5%, with seven replicates and 20 birds per experimental unit. The phytogetic supplementation did not influence ($P>0.05$) the weight gain and feed intake. However, the yerba-mate had better feed conversion ($P <0.05$) than control treatment. No effect ($P>0.05$) was observed with a phytogetic supplementation on serum biochemical profile, relative gastrointestinal tract organs weight and lymphoid, and small intestine. The yerba-mate supplementation presented higher villus:crypt ratio in the jejunum ($P<0.05$) when compared to control treatment. For cellular immune response, mediated by phytohemagglutinin, there was interaction ($P<0.05$) between phytogetics and reaction time. In the 24-hour post-inoculation period, the yerba mate, green tea and hibiscus supplementation presented a lower ($P<0.05$) inflammatory reaction compared to control and stevia treatments. And in the period of 48 hours, they maintained the same relation, with lower values of inflammatory reaction with yerba mate, green tea and hibiscus supplementation. Phytogetics provided lower ($P<0.05$) heterophiles number and lower H/L ratio when compared to control treatment. With green tea and hibiscus supplementation there was higher ($P<0.05$) titer antibodies in relation to the control, not differing from yerba-mate and stevia. In conclusion, the use of phytogetic feed additives at the 0.5% level in broiler chickens feeding during the 1 to 21 days period may improve intestinal morphometry and reduce feed conversion. The phytogetic may reduce the stress of birds by their known anti-inflammatory effects, as shown by the reduction in H / L ratio. In addition, green tea and hibiscus may be important additives to improve the humoral immune system. In the experiment II, the growth performance, serum biochemical profile, organ weight, quality and lipid oxidation of the meat were evaluated in the phase of 21 to 42 days of age. 1134 male Cobb® broiler chickens were distributed in a completely randomized design in a factorial scheme $4 \times 2 + 1$ (phytogetic x levels + control), totaling 9 treatments, with seven replicates and 18 birds per experimental unit. The evaluated phytogetic levels were 0.5 and 1.0% of supplementation. There was no interaction ($P<0.05$) between additives and phytogetic levels, for the evaluated parameters, except for abdominal fat percentage. Increasing the green tea level

supplementation to 1.0% resulted in a lower abdominal fat percentage ($P<0.05$) and for the additive at the 1% supplementation level there was a lower value for green tea compared to the stevia. Green tea supplementation decreased ($P<0.05$) feed intake and weight gain of the birds compared to yerba mate and stevia, without differing from hibiscus. However, no difference was observed for feed conversion. No effect of the phytogetic additives was observed on serum biochemical profile, relative gastrointestinal tract organs weight and intestine length. However, higher CRA was observed with green tea and hibiscus supplementation, and higher value with the additives supplementation at the 1.0% level. For malonaldehyde values, the yerba mate and green tea supplementation at the 1.0% level decreased the values in relation to control treatment. In conclusion, the 1.0% of yerba mate, green tea and hibiscus supplementation in diets of broiler chickens during the final phase can reduce feed intake and weight gain, although without altering feed conversion. However, yerba mate and green tea supplementation improves meat quality and at the 1.0% supplementation level reduces meat lipid oxidation. In the experiment III, productive performance, serum biochemical profile, egg quality and lipid oxidation were evaluated. A total of 320 laying hens (33 weeks old), Hy-Line W36, distributed in a completely randomized design, were divided in five treatments: control; yerba-mate 0.5%; green tea 0.5%; hibiscus 0.5% and stevia 0.5%, with eight replicates and eight birds per experimental unit. The productive performance was evaluated during 4 cycles of 21 days each, and egg quality was evaluated in the last four days of each cycle. Dietary supplementation in the diets did not change ($P>0.05$) the productive performance, serum biochemical profile, egg weight, eggshell thickness and Haugh Unit. However, it was observed a lower ($P<0.05$) eggshell percentage in birds that received green tea supplementation when compared to control and stevia treatments. The eggs lipid oxidation was carried out under a 5 x 6 x 2 factorial scheme (5 treatments x 6 storage periods x 2 environments). There was interaction ($P<0.05$) between treatments and storage periods, for malonaldehyde values, evaluated by the TBARS method, in buds, presenting lower values for treatments supplemented with yerba-mate, green tea and hibiscus compared to control, on days 0, 5 and 10 of storage, independent of the storage environment. In conclusion, the phytogetic powders addition in laying hens diet at the level of 0.5% or 5 g/kg of diet did not alter the performance parameters. Although, yerba mate, green tea and hibiscus supplementation in poultry diets may decrease egg lipid oxidation.

Key words: antimicrobial, antioxidant, egg quality, meat quality, performance

I – INTRODUÇÃO

Para sustentar o desenvolvimento de toda a cadeia produtiva avícola têm-se inúmeros fatores, que possibilitam a obtenção de elevados índices zootécnicos. Dentre estes fatores, as utilizações de aditivos na ração, como os antibióticos melhoradores de desempenho, são utilizadas para controlar agentes patogênicos do trato gastrointestinal, promovendo melhora nos índices zootécnicos e maximizando a produção (Farahat et al., 2016). No entanto, o uso de antibióticos na alimentação animal foi restringido pela União Europeia, pela possível presença de resíduos dos antimicrobianos nos produtos e a indução de resistência cruzada para bactérias patogênicas para os consumidores (Huyghebaert et al., 2011).

A retirada dos antibióticos das rações pode acarretar em queda no desempenho produtivo, e gera desafios para as indústrias avícolas em encontrar alternativas ao uso destes. Portanto, há necessidade de aditivos alternativos naturais com intuito de melhorar a eficiência alimentar, bem como a estabilidade oxidativa do organismo animal, conseqüentemente o produto final, carne e ovos. Entre as estratégias de substituição do uso antibióticos, destacam-se os fitogênicos, que são produtos derivados de plantas, ervas, especiarias, utilizados na forma em pó e/ou seus respectivos extratos (Windisch et al., 2008).

Os fitogênicos têm-se destacado por suas diversas propriedades de seus compostos bioativos, oriundos do metabolismo secundário das plantas, apresentando ação antibacterianas e imunomodulatória, que podem melhorar o desempenho produtivo animal, através da melhora na saúde intestinal das aves (Farahat et al., 2016), resultando em melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, aumentando a eficiência alimentar (Sarker et al., 2010), além de sua propriedade antioxidante, que pode retardar a oxidação

lipídica da carne e dos ovos, obtendo um produto final de melhor qualidade e que pode acarretar em melhor tempo de prateleira (Paraskeuas et al., 2017; Racanicci et al., 2011).

No entanto, há diferenças nos resultados obtidos com uso de fitogênicos, em consequências de fatores como o tipo e a parte da planta utilizada e suas propriedades físicas, o tempo de colheita, o método de preparação do aditivo fitogênico, a compatibilidade com outros componentes alimentares e o nível de suplementação nas dietas animais (Yang et al., 2009).

Devido as propriedades antibacterianas, antioxidante e imunomodulatória de plantas, como a erva mate (*Ilex Paraguariensis*), chá verde em pó (*Camellia Sinensis*), o hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) e a estévia (*Stevia Rebaudiana*) torna-se interessante avaliar seus efeitos sobre o desempenho produtivo, sistema imune e qualidade do produto final das aves, criadas sem antibióticos melhoradores de desempenho. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da erva-mate, do chá verde, do hibisco e da estévia como aditivo nas dietas para frangos de corte na fase inicial e final de criação e para poedeiras comerciais.

1.1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1. Aditivos na alimentação de aves

O sucesso da avicultura brasileira é atribuído ao conjunto de fatores, como o melhoramento genético, ambiência com o fortalecimento da zootecnia de precisão, inclusão de rigorosos programas sanitários, novas técnicas de manejo de produção, tudo isso aliado a nutrição fazem um importante papel (Mendes and Komiyama, 2011). Dentro da nutrição, tem-se a utilização de aditivos, como os antibióticos que atuam como melhoradores de desempenho, que contribuem para o sucesso da avicultura moderna. Estes são utilizados nas rações em doses subterapêuticas, para obter melhores índices zootécnicos, controlando agentes patogênicos, além de reduzir a mortalidade (Lee et al., 2004).

Uma das alternativas encontradas para substituição dos antibióticos como melhoradores de desempenho é a utilização de aditivos fitogênicos, pelas suas propriedades diversas, antibacteriana, antioxidante, anti-inflamatória (Sarker et al., 2010).

Aditivos fitogênicos são compostos derivados de plantas ou ervas e apresentam elevados níveis de compostos bioativos que participam do metabolismo secundário das plantas. Os fitogênicos possuem propriedades que ao serem incorporados nas dietas animais, têm como objetivo melhorar os índices zootécnicos, pelo fato de melhorar a saúde animal, melhorando o sistema imune (Dong et al., 2016; Farahat et al., 2016; Rizzo et al., 2010) e diminuindo agentes patogênicos no sistema digestivo pela ação antimicrobiana (Jang et al. 2007), além de atuar como antioxidante diminuindo estresse oxidativo e oxidação lipídica dos produtos (Khan, 2014). Estes resultados refletem em aumento do ganho de peso, melhor eficiência alimentar e melhor qualidade dos produtos finais (Koiyama, 2012).

Os compostos bioativos, ou seja, os compostos fenólicos são divididos em dois grandes grupos. A divisão é feita a partir da similaridade de suas cadeias de átomos de carbono: os não flavonoides que são fenóis simples ou ácidos, e os flavonoides que incluem substâncias como as catequinas e as antocianinas (Bonaga et al., 1990). O grupo dos flavonoides é composto pelos flavanóis (catequinas), antocianinas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis (caempferol, quercetina, turina e miricetina). Já o grupo dos não flavonoides é composto pelos ácidos fenólicos, hidroxibenzoicos, hidroxicinâmicos e os estilbenos (Pereira and Cardoso, 2012).

1.1.1.2. Erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*), é uma planta arbustiva da família Aquifoliaceae, nativa dos países da América do Sul como Brasil, Argentina e Paraguai (Bracesco et al., 2011). A erva-mate é muito conhecida por ser utilizada na preparação de chás e do tradicional chimarrão ou tereré por meio de infusões aquosas de suas folhas secas e moídas, também pode ser comercializada para utilização em indústrias alimentícias ou como suplemento dietético (Martins-Ramos et al., 2010).

Os compostos bioativos identificados na erva-mate são: derivados do cafeoil (ácido caféico, ácido 4,5-dicafeoilquínico), flavonóides (quercetina, rutina e *kaempferol*), metilxantinas (cafeína, teofilina e teobromina) e saponinas triterpênicas (Burris et al., 2012). A *Ilex paraguariensis* possui grandes concentrações dos derivados de cafeoil, como o ácido clorogênico e o ácido cafeico, e de flavonoides, como a rutina e a quercetina, quando comparada com outras espécies do gênero *Ilex* (Filip et al., 2001), estes compostos contribuem para a atividade antimicrobiana frente a bactérias, fungos e

vírus (Burris et al., 2015; Cushnie and Lamb, 2005), além de suas atividades antioxidante (Vieira et al., 2010).

A erva-mate pode melhorar a conversão alimentar, por possuir grande concentração de polifenóis presentes neste aditivo, como os derivados do cafeoil, ácido clorogênico, quercitinas, rutinas e teobrominas, os quais possuem alta atividade antimicrobiana frente a bactérias e fungos (Burris et al., 2011; Burris et al., 2015). Isso pode acarretar em melhor saúde intestinal das aves, favorecendo a microbiota benéfica, resultando em melhor aproveitamento da dieta e menor gasto energético no trato gastrointestinal para a manutenção da sua integridade (McReynolds et al., 2009), resultando em melhor eficiência alimentar (Racanicci et al., 2011).

1.1.1.3. Chá-verde (*Camellia sinensis*)

Camellia sinensis, pertencente à família *Theaceae*, gênero *Camellia* e espécie *sinensis* (Lorenzi and Matos, 2002). Popularmente, a planta é conhecida como chá verde, chá-da-índia, chá preto ou “*green tea*”. Originária do sudeste asiático, a *Camellia sinensis* é cultivada em mais de 30 países em todo o mundo há mais de 50 anos. Existem algumas variedades de *Camellia sinensis*, de acordo com a preparação diferencial das suas folhas após a colheita. Folhas recém-coletadas e imediatamente estabilizadas caracterizam-se como chá-verde e, quando submetidas à fermentação rápida ou prolongada constituem o tipo *oolong* e o chá preto, respectivamente (Kuhn and Winston, 2000). Quanto menor a fermentação, maior a quantidade de catequinas, principalmente de epigalocatequina-galato (Nishiyama et al., 2010).

A composição química do chá verde inclui diversas classes de compostos fenólicos ou flavonoides, tais como flavonóis e ácidos fenólicos, além de cafeína, carboidratos, aminoácidos e certos micronutrientes como as vitaminas B, E, C e minerais como o cálcio, magnésio, zinco, potássio e ferro (Khan, 2014; Yanagimoto et al., 2003).

O chá verde contém catequinas, sendo a principal a epigalocatequina-3-galato (EGCG), representa 55,6% do total de catequinas (13,93% da matéria seca), que se acredita ser responsável pela maioria dos benefícios para a saúde ligados ao chá verde (Ishihara et al., 2001), pelo potencial antioxidante e antibacteriana (Hara-Kudo et al., 2005). Devido a estas propriedades, alguns estudos mostram que a suplementação de chá verde nas dietas animais, demonstraram melhorar o ganho de peso e a eficiência alimentar das aves (Cao et al., 2005; Khan, 2014). As propriedades antioxidantes de extrato de chá

verde, demonstram aumento da glutathione-redutase no fígado e diminuição do nível de malondialdeído na carne (Farahat et al., 2016), este efeito é atribuído ao seu conteúdo de polifenóis ao eliminar os radicais livres e posteriormente estabilizar a parede celular, por atrasar ou inibir o início da peroxidação lipídica (Ramadan et al., 2003).

Suplementando as dietas de frangos de corte com extrato hidroalcoólico de chá verde (0,1 g/kg ou 0,2 g/kg), Erener et al. (2011) observaram que as propriedades antimicrobianas e imunomoduladoras das catequinas podem beneficiar a estabilidade da eubiose no intestino. Isso pode resultar em menor gasto energético no trato gastrointestinal para manutenção da sua integridade, diminuindo a taxa de “*turnover*” (Niewold, 2007), com tendência para menores peso relativo e comprimento do intestino para aves suplementadas com 0,2 g/kg do extrato de chá verde.

O uso dos chá verde e hibisco nas dietas de frangos de corte podem melhorar a resposta de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle e subsequentemente pode ser utilizado como ferramenta para aumentar a eficácia da vacinação e efeito imunoestimulante humoral (Farahat et al., 2016).

Estudos com ratos, apresentaram diminuição no consumo de ração, suplementados com chá verde, pela presença da cafeína que pode estimular a termogênese e a oxidação da gordura através da inibição da fosfodiesterase, uma enzima que degrada o AMPc (adenosina monofosfato cíclico) intracelular (Diepvens et al., 2007), maximizando a atividade da lipase do adipócito e com isso, aumentar a lipólise (Langfort et al., 1999).

O uso de chá verde em substituição à água, para ratos, durante 3 semanas, reduz o peso do tecido adiposo sem alterar o peso corporal e ingestão de alimentos e água. O chá verde reduz a absorção de glicose, acompanhado da diminuição da translocação do transportador de glicose 4 (GLUT4) no tecido adiposo, enquanto estimula a absorção de glicose com translocação GLUT4 no músculo esquelético, reduzindo a entrada de glicose nas células adiposas, além de bloquear a ativação de fatores da adipogênese (Ashida et al., 2004). A adição de chá verde em dietas de frangos de corte, contendo 12,42% de polifenóis e 5,76% de cafeína, diminuíram a gordura abdominal (Wu et al., 2014), que pode ser em parte pelo efeito estimulante da cafeína presente nos fitogênicos atuando sobre a lipólise no tecido adiposo.

1.1.1.4. Hibisco (*Hibiscus sabdariffa*)

O hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) é uma espécie vegetal da família *Malvaceae*, proveniente da África Oriental. Arbusto de ciclo anual, o hibisco pode atingir mais de 1,80 m de altura, é pouco ramificado, o cálice é composto por cinco sépalas de intensa coloração vermelha em forma de cone (Patel, 2014).

Essa planta tropical cresce amplamente nas regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios e tornou-se naturalizado em várias regiões das Américas (Ramírez-Rodrigues et al., 2012). Muito popular na África Ocidental e sul da Ásia, o interesse econômico do hibisco está nos cálices desidratados, utilizados mundialmente para a produção de bebidas, alimentos, conservantes e antioxidantes (Lin et al., 2012).

Em busca de mais alimentos ricos em compostos fenólicos e consequentemente com alta atividade antioxidante e antibacteriana, a indústria alimentícia já se utiliza dos benefícios do *H. sabdariffa*, tanto de suas folhas quanto do cálice. A sua composição apresenta polifenóis, flavonoides, é rico em vitamina C (Linares et al., 2015) e antocianinas (739,43 mg/L de extração) (Guindani et al., 2014). Estudos mostram benefícios às pessoas que consomem o *H. sabdariffa* L., pelo alto teor de substâncias com caráter antioxidante, por conta da boa capacidade de sequestrar radicais livres e outros agentes oxidantes no organismo (Lin et al., 2007). Além disso, o extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) mostrou-se como fator de proteção antibacteriana, *in vitro*, contra *Escherichia coli* e *Salmonella Enteritidis* (Maciel et al., 2012).

1.1.1.5. Estévia (*Stevia Rebaudiana*)

A *Stevia rebaudiana* é um arbusto ramificado da família *Asteraceae*, nativo da América do Sul, especificamente Brasil e Paraguai, e ele tem sido usado como adoçante natural durante centenas de anos (Gasmalla et al., 2014). A estévia é considerada uma planta muito doce pois apresenta em suas folhas substâncias não calóricas com alto poder edulcorante, extraídas comercialmente para a fabricação de adoçantes naturais (Goyal and Goyal, 2010). Essas substâncias são denominadas como glicosídeos diterpênicos, incluindo esteviosídeos, rebaudiosídeos (A, B, C, D, E e F), esteviolbiosídeo, isoesteviol e dulcosídeo A, podendo representar de 4 a 20% do peso seco das folhas. Além dos glicosídeos, as folhas contêm também outros elementos, como proteínas, ácidos graxos,

minerais, ácidos fenólicos, flavonoides (Gaweł-Bęben et al., 2015), como kaempferol, quercetina, catequinas; vitaminas como ácido ascórbico, riboflavina e tiamida e compostos como beta-caroteno e clorofila (Goyal and Goyal, 2010).

A estévia ao ser processada gera um produto inócuo para a fabricação de adoçante, o esteviosídeo. O processo de obtenção do esteviosídeo consiste em primeiramente moagem das folhas secas de estévia, mistura em água fervente, remoção do extrato aquoso contendo princípios adoçantes, pigmentos da planta e impurezas solúveis em água. Após isso, realiza-se a extração orgânica que consta na concentração da solução até a formação cristais de esteviosídeos. Desta forma, obtém-se o esteviosídeo e o subproduto deste procedimento é denominado extrato doce ou caramelo (Miotto et al., 2004).

O esteviosídeos e rebaudiosídeos A não extraídos no processo ainda podem ser encontrados em teores significativos no caramelo, que geralmente acaba sendo descartado ou estocado sem utilidade nenhuma (Miotto et al., 2004). Porém, Geuns et al. (2003), realizaram um ensaio de digestibilidade para avaliação do metabolismo do esteviosídeo em frangos de corte e poedeiras comerciais. As aves foram suplementadas com 667mg de esteviosídeo, e apenas 2% de esteviol foi encontrado nas fezes, sendo convertido pelas bactérias cecais. Todavia, não foi observada a presença de esteviosídeo nem esteviol no sangue dos animais como também nos seus respectivos produtos (carne e ovos). Sugere-se desta forma, que por ser uma substância pouco solúvel, o esteviol não é absorvido facilmente pelos eptélios do ceco ou cólon. Além disso, não influenciou no consumo total de ração, ganho de peso e produção total de ovos. A relatada má absorção intestinal de esteviosídeos associada às propriedades antimicrobianas da estévia sugeriram a utilização dos mesmos como um aditivo prebiótico (Atteh et al., 2008).

Atteh et al., (2008) avaliaram a retenção de nutrientes e o desempenho de frangos de corte com dietas contendo 2% de folhas de estévia ou 130 ppm de 98% esteviosídeo puro comparado com aves alimentadas com dieta controle com ou sem enzimas. A adição de estévia e esteviosídeo, não influenciaram sobre o conteúdo de energia metabolizável das dietas e as quantidades de esteviosídeo que foram recuperadas nas excretas das aves das dietas com estévia e o esteviosídeo foram semelhantes.

1.1.2. Ação antioxidante sobre a oxidação lipídica da carne e do ovo

A carne de frango é mais susceptível à oxidação lipídica, pois possui maior proporção de ácidos graxos poli-insaturados do que saturados na sua composição,

gerando maior concentração de radicais livres (Mariutti and Bragagnolo, 2009). Ovos também possuem grandes quantidades de ácidos graxos insaturados, sendo a gema composta por: 8,7 g de ácidos graxos saturados, 13,2 g de ácidos graxos monoinsaturados, 3,4 g de ácidos graxos poli-insaturados e 1.120 mg de colesterol, por 100 g de gema fresca (Holland et al., 1997). Por conterem grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, são menos estáveis ao processo de oxidação lipídica e isso limita a capacidade de conservação (Pita et al., 2004). A oxidação lipídica promove alterações sensoriais, ocasionando redução do valor nutricional e formação de compostos tóxicos durante o processamento e armazenamento (Melo Filho e Vasconcelos, 2016). Depois da deterioração microbiana, o processo oxidativo é o principal processo pelo qual ocorre perda de qualidade das carnes e seus derivados, além de promover o desenvolvimento de sabores indesejáveis e produzir substâncias potencialmente tóxicas como malonaldeído e óxidos de colesterol (Del Rio et al., 2005).

A oxidação dos lipídios no músculo se inicia com os fosfolipídios localizados nas membranas celulares, ricos em ácidos graxos poli-insaturados (Carocho and Ferreira, 2013). O rompimento da integridade das membranas pelos processos de moagem, desossa mecânica ou cozimento, altera a compartimentalização celular, liberando o ferro cataliticamente ativo da mioglobina. A interação deste e de outros agentes oxidantes com os ácidos graxos poli-insaturados resulta na geração de radicais livres e na propagação de reações oxidativas (Lü et al., 2010).

O processo de autoxidação pode ser dividido em três etapas: iniciação, propagação e terminação (Figura 1). Em nível molecular, o processo de oxidação lipídica inicia na ligação carbono-hidrogênio adjacente à dupla ligação da cadeia carbônica dos ácidos graxos insaturados, sendo catalisada por inúmeros fatores: ambientais (umidade, luz, calor, oxigênio), presença de metais (cobre, ferro, manganês), de enzimas e de pigmentos (Carocho and Ferreira, 2013).

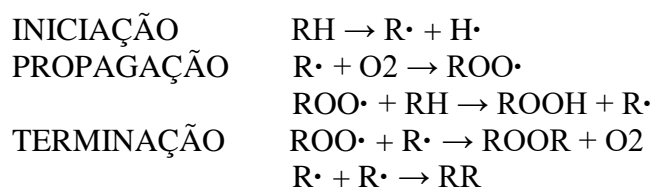


Figura 1. Mecanismo geral da autoxidação lipídica (adaptado de Farmer et al., 1942). Em que: RH = ácido graxo insaturado, R· = radical livre, ROO· = radical peróxido e ROOH = radical hidroperóxido.

Na fase de propagação, os radicais livres formados na etapa de iniciação reagem com o oxigênio formando radicais peroxila, e começam a reagir com outros lipídios insaturados, convertendo-os a hidroperóxidos lipídico e formando novos radicais livres, tornando-se um processo autocatalítico, tornando em uma reação em cadeia até que todo ácido graxo seja completamente oxidado (Fellenberg and Speisky, 2006).

Na última etapa do processo de oxidação denominada terminação, ocorrendo quando todo o oxigênio estiver esgotado ou houver compostos inativos, através das reações entre os próprios radicais livres originando produtos estáveis. É nesta etapa que há forte mudança sensorial, com a formação do aroma característico de ranço nos alimentos lipídicos, devido a formação dos compostos não voláteis como dímeros e polímeros, e voláteis como aldeídos e cetonas (Silva et al., 1999).

No processo de oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) são formadas substâncias químicas tóxicas, destacando-se o malonaldeído (MDA) (Lima and Abdalla, 2001). Este aldeído com três carbonos, é muito utilizado para avaliar a oxidação lipídica em alimentos, e pode ser detectado pelo ácido tiobarbitúrico (TBA), conhecido pelo método TBARS (Nair and Turner, 1984). Este método baseia-se na reação de uma molécula de MDA com o TBA, em meio ácido e sob altas temperaturas, formando um composto cromóforo de cor vermelha (TBA-MDA) (Tabela 2), sendo medido por espectrofotometria a 532, 538 e 540 nm de comprimento de onda, expressando a absorvância equivalente de MDA (mg/kg ou μg) (Silva et al., 1999).

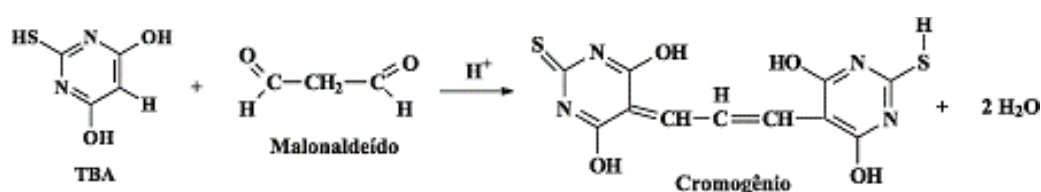


Figura 2. Reação do teste de TBA entre o ácido 2-tiobarbitúrico e o malonaldeído, formando o composto colorido, medido espectrofotômetro.

A reação em cadeia da degradação lipídica são reguladas no organismo por moléculas antioxidantes. Os radicais livres produzidos podem ser neutralizados pelos antioxidantes através da doação de elétrons, estabilizando as moléculas com número ímpares de elétrons (Lü et al., 2010). Em termos de produtos alimentares, um antioxidante foi definido como qualquer substância que, quando presente em

concentrações baixas, em comparação com a de um substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato (Gülçin, 2012).

Os antioxidantes são classificados em dois grupos principais: antioxidantes primários e secundários. São considerados primários os compostos de ação antioxidante capazes de inibir ou retardar a oxidação por inativação de radicais livres, pela doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons, e transforma os radicais em substâncias estáveis (Figura 3). Os antioxidantes secundários apresentam grande variedade de modos de ação: ligação de íons metálicos (alteração de valência); inativação de espécies reativas do oxigênio (ERO), conversão de hidroperóxidos em espécies não radicais ou absorção de radiação UV (Maisuthisakul et al., 2007).

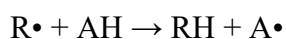
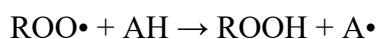


Figura 3. Mecanismo de ação dos antioxidantes primários (Frankel, 1980).

Em que: $\text{ROO}\cdot$ e $\text{R}\cdot$ - radicais livres; AH - antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo; ROOH - hidroperóxido; $\text{A}\cdot$ - radical inerte.

As reações oxidativas podem ser interrompidas quando o átomo de hidrogênio do antioxidante (AH) reage com radicais livres ($\text{ROO}\cdot$ e $\text{R}\cdot$), formando produtos não radicais e radical inerte ($\text{A}\cdot$). Assim, as substâncias antioxidantes podem inibir a formação de radicais livres na cadeia de iniciação ou removê-los, interrompendo o processo, na etapa de propagação das reações oxidativas desencadeadas pelos radicais (Podsędek, 2007).

Os aditivos utilizados pela indústria de alimentos podem ser isolados a partir de materiais naturais ou produzidos por síntese (Decker e Xu, 1998). Os principais antioxidantes sintéticos, são os compostos fenólicos, como o BHA (butilhidroxianisol), o BHT (butilhidroxitolueno), PG (Propil galato) e o TBHQ (terc-butilhidroquinona), antioxidantes primários que atuam na etapa de iniciação (Takemoto et al., 2009). Porém, os antioxidantes sintéticos têm sido questionados quanto às doses de segurança e toxicidade. Dessa forma, há uma busca contínua por compostos naturais, em substituição aos antioxidantes sintéticos, para serem utilizados como captadores de radicais livres em alimentos para animais. Mas, para isso, são necessários níveis suficientes de antioxidantes dietéticos para estabilizar os radicais livres altamente reativos e para estabelecer um equilíbrio entre a produção de antioxidantes e radicais livres (Panda and Cherian, 2014).

Entretanto, a atividade dos compostos fenólicos não depende somente de suas características estruturais, como também de muitos outros fatores, como a concentração, temperatura, nível de luz, tipo de substrato, estado físico do sistema, bem como dos numerosos microcomponentes que atuam como pró-oxidantes (Gülçin, 2012).

Frangos de corte podem ser naturalmente expostos a uma multiplicidade de fatores de stress a longo e curto prazo durante o seu tempo de vida. Os fatores de estresse podem estimular a geração excessiva e contínua de radicais livres acima dos níveis normais de metabolismo celular que pode induzir, potencialmente, a lesão das estruturas moleculares celulares, aumentar a peroxidação lipídica, prejudicar o desempenho e dificultar a resposta imune (Young et al., 2003). Além disso, a oxidação pode continuar em músculo e tecido adiposo após o abate e leva a redução do prazo de validade dos produtos de carne e carne (Smet et al., 2008).

1.1.3. Ação antimicrobiana e imunomodulatória

O modo de ação antimicrobiana dos fitogênicos é considerado, principalmente, a partir do potencial hidrofóbico, por invadir a membrana celular bacteriana, desintegrar estruturas de membrana e promover liberação dos íons, causando a ruptura e, conseqüente, morte da célula (Dorman and Deans, 2000).

A erva mate apresenta atividade antimicrobiana em alimentos como, por exemplo, contra as bactérias *Escherichia coli* (Gram-negativa) e *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) que causam gastroenterites (Burriss et al., 2011; Filip et al., 2010).

O constituinte mais abundante dos extratos de chá verde, é a catequina, tendo efeito inibitório sobre bactérias Gram-positivas, bem como bactérias Gram-negativas, inibindo o crescimento *Staphylococcus* (Gram-positivo) e *Escherichia coli*, e *Salmonella* (Gram-negativas) (Yoda et al., 2004), e diminuir o número de *Clostridium botulinum* (*C. botulinum*) e *Clostridium butyricum* (*C. butyricum*) (Hara-Kudo et al., 2005). O extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) tem fator de proteção antibacteriana, *in vitro*, contra *Escherichia coli* e *Salmonella Enteritidis* (Maciel et al., 2012). Os esteviosídeos associados às propriedades antimicrobianas da estévia sugeriram a utilização dos mesmos como um aditivo prebiótico, pela mudança na microbiota intestinal (Atteh et al., 2008).

O uso de fitogênicos na alimentação das aves têm demonstrado que, além de promover a modulação benéfica da microbiota intestinal, resulta em efeitos imunomodulatórios que permitiriam reduzir o estresse imunológico. O estresse

imunológico, acarreta em diminuição do consumo de ração, aumento da taxa metabólica e direcionamento dos nutrientes para atender às necessidades energéticas da resposta imune, que seriam destinadas ao crescimento do músculo esquelético (Qureshi, 2002).

Os compostos bioativos atuam como antimicrobianos e imunomoduladores, promovendo a melhoria da saúde das aves, reduzindo o crescimento de agentes patogênicos na microflora intestinal, prevenindo possíveis infecções subclínicas (Jang et al., 2007). Assim há a produção normal de muco intestinal, que facilita a digestão e absorção dos nutrientes (Hong et al., 2012). Estes efeitos dos compostos bioativos dos fitogênicos, estão diretamente ligados a morfometria intestinal, ou seja, há um equilíbrio normal entre perda e proliferação celular no epitélio intestinal em resposta a agentes externos estimuladores (Uni et al., 1999), como os microrganismos e toxinas. Quando se tem uma menor carga de bactérias patogênicas e há taxa de proliferação maior que taxa de descamação ou perda celular, o tamanho ou densidade dos vilos conseqüentemente irá aumentar, elevando a capacidade de digestão e absorção, aumentando a superfície de contato (Perić et al., 2010).

REFERÊNCIAS

- Ashida, H.; T. Furuyashiki; H. Nagayasu; H. Bessho; H. Sakakibara; T. Hashimoto, and K. Kanazawa. 2004. Anti-obesity actions of green tea: possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors. *Biofactors* 22:135-140.
- Atteh, J.; O. Onagbesan; K. Tona; E. Decuypere; J. Geuns, and J. Buyse. 2008. Evaluation of supplementary stevia (*Stevia rebaudiana, bertonii*) leaves and stevioside in broiler diets: effects on feed intake, nutrient metabolism, blood parameters and growth performance. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 92:640-649.
- Bonaga, G.; U. Pallotta, and K. Syrghi. 1990. Influenza delle sostanze polifenoliche sulla qualità dei vini bianchi. Parte prima. *Vini d'Italia* 4:13-30.
- Bracesco, N.; A. Sanchez; V. Contreras; T. Menini, and A. Gugliucci. 2011. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *Journal of Ethnopharmacology* 136:378-384.
- Burris, K. P.; F. M. Harte; P. M. Davidson; C. N. Stewart Jr, and S. Zivanovic. 2012. Composition and bioactive properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): A review. *Chilean Journal of Agricultural Research* 72:268.
- Burris, K. P.; K. L. Higginbotham, and C. N. Stewart Jr. 2015. Aqueous extracts of yerba mate as bactericidal agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a microbiological medium and ground beef mixtures. *Food Control* 50:748-753.
- Burris, K. P.; P. M. Davidson; C. N. Stewart Jr, and F. M. Harte. 2011. Antimicrobial activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) aqueous extracts against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Science* 76.

- Cao, B.; Y. Karasawa, and Y. Guo. 2005. Effects of green tea polyphenols and fructo-oligosaccharides in semi-purified diets on broilers' performance and caecal microflora and their metabolites. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18:85-89.
- Carocho, M., and I. C. Ferreira. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology* 51:15-25.
- Cushnie, T. T., and A. J. Lamb. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26:343-356.
- Decker, E. A., and Z. Xu. 1998. Minimizing rancidity in muscle foods. *Food technology (USA)*.
- Del Rio, D.; A. J. Stewart, and N. Pellegrini. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 15:316-328.
- Dong, Z.; Y. Wang; D. Song; Y. Hou; W. Wang; W. Qi; T. Yun, and A. Li. 2016. The effects of dietary supplementation of pre-microencapsulated *Enterococcus faecalis* and the extract of *Camellia oleifera* seed on growth performance, intestinal morphology, and intestinal mucosal immune functions in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 212:42-51.
- Dorman, H., and S. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88:308-316.
- Duarte, M. R., and D. O. Menarim. 2006. Morfodiagnose da anatomia foliar e caulinar de *Camellia sinensis (L.) Kuntze*, Theaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16:545-551.
- Farahat, M.; F. Abdallah; T. Abdel Hamid, and A. Hernandez Santana. 2016. Effect of supplementing broiler chicken diets with green tea extract on the growth performance, lipid profile, antioxidant status and immune response. *British Poultry Science* 57:714-722.
- Farmer, E.; G. Bloomfield; A. Sundralingam, and D. Sutton. 1942. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. *Transactions of the Faraday Society* 38:348-356.
- Fellenberg, M., and H. Speisky. 2006. Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. *World's Poultry Science Journal* 62:53-70.
- Filip, R.; P. López; G. Giberti; J. Coussio, and G. Ferraro. 2001. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia* 72:774-778.
- Filip, R.; R. Davicino, and C. Anesini. 2010. Antifungal activity of the aqueous extract of *Ilex paraguariensis* against *Malassezia furfur*. *Phytotherapy Research* 24:715-719.
- Frankel, E. 1980. Lipid oxidation. *Progress in lipid research* 19:1-22.
- Gasmalla, M. A. A.; R. Yang; I. Amadou, and X. Hua. 2014. Nutritional composition of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaf: effect of drying method. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 13:61-65.
- Gaweł Bęben, K.; T. Bujak; Z. Nizioł Łukaszewska; B. Antosiewicz; A. Jakubczyk; M. Karaś, and K. Rybczyńska. 2015. *Stevia rebaudiana* Bertoni leaf extracts as a multifunctional source of natural antioxidants. *Molecules* 20:5468-5486.
- Geuns, J. M.; R. D. Malheiros; V. M. Moraes; E. M. P. Decuypere; F. Compernelle, and J. G. Buyse. 2003. Metabolism of stevioside by chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:1095-1101.
- Goyal, S., and R. Goyal. 2010. *Stevia (Stevia rebaudiana)* a bio-sweetener: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 61:1-10.
- Guindani, M.; F. Tonet; F. Kuhn; J. Magro; F. Dalcanton; M. Fiori, and J. Mello. 2014. Estudo do processo de extração dos compostos fenólicos e antocianinas totais do

- Hibiscus Sabdariffa*. Proc. XX congresso de engenharia química. Florianópolis–Santa Catarina.
- Gülçin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. Archives of Toxicology 86:345-391.
- Hara-Kudo, Y.; A. Yamasaki; M. Sasaki; T. Okubo; Y. Minai; M. Haga; K. Kondo, and Y. Sugita-Konishi. 2005. Antibacterial action on pathogenic bacterial spore by green tea catechins. Journal of the Science of Food and Agriculture 85:2354-2361.
- Hashemi, S., and H. Davoodi. 2010. Phytonics as new class of feed additive in poultry industry. Journal of Animal and Veterinary Advances 9:2295-2304.
- Holland, B.; A. A. Welch; I. D. Unwin; D. H. Buss; A. A. Paul, and D. A. T. Southgate. 1997. The composition of foods. 5th ed. Cambridge: Redwood Books, 462p.
- Hong, J. C.; T. Steiner; A. Aufy, and T. F. Lien. 2012. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. Livestock Science 144:253-262.
- Huyghebaert, G.; R. Ducatelle, and F. Van Immerseel. 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. The Veterinary Journal 187:182-188.
- Ishihara, N.; D. C. Chu; S. Akachi, and L. Juneja. 2001. Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. Livestock Production Science 68:217-229.
- Jang, S. I.; M. H. Jun; H. S. Lillehoj; R. A. Dalloul; I. K. Kong; S. Kim, and W. Min. 2007. Anticoccidial effect of green tea-based diets against *Eimeria maxima*. Veterinary Parasitology 144:172-175.
- Khan, S. H. 2014. The use of green tea (*Camellia sinensis*) as a phytochemical substance in poultry diets. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 81:01-08.
- Koyama, N. T. G. 2012. Aditivos fitogênicos na produção de frangos de corte.
- Kuhn, M. A., and D. Winston. 2000. Herbal therapy and supplements: a scientific and traditional approach. Lippincott Williams & Wilkins.
- Lee, K.; H. Everts; H. Kappert; J. Van Der Kuilen; A. Lemmens; M. Frehner, and A. Beynen. 2004. Growth performance, intestinal viscosity, fat digestibility and plasma cholesterol in broiler chickens fed a rye-containing diet without or with essential oil components. International Journal of Poultry Science 3:613-618.
- Lima, E., and D. S. P. Abdalla. 2001. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 37:293-303.
- Lin, H.-H.; K. C. Chan; J.-Y. Sheu; S. W. Hsuan; C. J. Wang, and J. H. Chen. 2012. *Hibiscus sabdariffa* leaf induces apoptosis of human prostate cancer cells in vitro and in vivo. Food Chemistry 132:880-891.
- Lin, T. L.; H. H. Lin; C. C. Chen; M.-C. Lin; M. C. Chou, and C. J. Wang. 2007. *Hibiscus sabdariffa* extract reduces serum cholesterol in men and women. Nutrition Research 27:140-145.
- Linares, I. B.; S. F. Arroyo; D. A. Roman; P. P. Suárez; R. D. Díaz; I. A. Gonzáles; A. F. Gutiérrez; J. G. Leyva, and A. S. Carretero. 2015. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). Industrial Crops and Products 69:385-394.
- Lorenzi, H., and F. J. Matos. 2002. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum.
- Lü, J. M.; P. H. Lin; Q. Yao, and C. Chen. 2010. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. Journal of Cellular and Molecular Medicine 14:840-860.

- Maciel, M. J.; M. P. Paim; H. H. C. Carvalho, and J. M. Wiest. 2012. Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 71:462-470.
- Maisuthisakul, P.; M. Suttajit, and R. Pongsawatmanit. 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry* 100:1409-1418.
- Mariutti, L. R. B., and N. Bragagnolo. 2009. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 68:1-11.
- Martins-Ramos, D.; R. Bortoluzzi, and A. Mantovani. 2010. Plantas medicinais de um remascente de Floresta Ombrófila Mista Altomontana, Urupema, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 12:380-397.
- Melo Filho, A. B. d., and M. A. d. S. Vasconcelos. 2016. *Química dos Alimentos* 44.
- Mendes, A. A., and C. M. Komiyama. 2011. Estratégias de manejo de frangos de corte visando qualidade de carcaça e carne. *Revista Brasileira de Zootecnia/Brazilian Journal of Animal Science* 352-357.
- Miotto, D. M. M.; N. R. C. F. Machado, and R. Fernandes. 2004. Purificação do subproduto do processo de extração de esteviosídeo. *Food Science and Technology* 24:146-150.
- Nair, V., and G. A. Turner. 1984. The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: structure of the adduct with malondialdehyde. *Lipids* 19:804-805.
- Nishiyama, M. F.; M. A. F. Costa; A. M. Costa; C. G. M. Souza; C. G. Bôer; C. K. Bracht, and R. M. Peralta. 2010. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis var assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 30:1.
- Panda, A. K., and G. Cherian. 2014. Role of vitamin E in counteracting oxidative stress in poultry. *The Journal of Poultry Science* 51:109-117.
- Paraskeuas, V.; K. Fegeros; C. Hunger; G. Theodorou, and K. C. Mountzouris. 2017. Dietary inclusion level effects of a phytogetic characterised by menthol and anethole on broiler growth performance, biochemical parameters including total antioxidant capacity and gene expression of immune-related biomarkers. *Animal Production Science* 57:33-41.
- Patel, S. 2014. *Hibiscus sabdariffa*: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications. *Biomedicine & Preventive Nutrition* 4:23-27.
- Pearce, M., and G. Jin. 2010. Aditivos Fitogênicos. *Porkworld* 58:128-136.
- Pereira, R. J., and M. d. G. Cardoso. 2012. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. *Journal of Biotechnology and Biodiversity* 3:146-152.
- Perić, L.; N. Milošević; D. Žikić; S. Bjedov; D. Cvetković; S. Markov; M. Mohnl, and T. Steiner. 2010. Effects of probiotic and phytogetic products on performance, gut morphology and cecal microflora of broiler chickens. *Archiv fur Tierzucht* 53:350-359.
- Pita, M. C. G.; E. P. Neto; L. M. Nakaoka, and C. X. de Mendonça Junior. 2004. Efeito da adição de ácidos graxos insaturados e de vitamina E à dieta de galinhas e seu reflexo na composição lipídica e incorporação de alfa-tocoferol na gema do ovo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 41:25-31.
- Podsędek, A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology* 40:1-11.

- Racanicci, A. M.; J. F. Menten; S. M. Alencar; R. S. Buissa, and L. H. Skibsted. 2011. Mate (*Ilex paraguariensis*) as dietary additive for broilers: performance and oxidative stability of meat. *European Food Research and Technology* 232:655-661.
- Ramadan, M. F.; L. W. Kroh, and J. T. Mörse. 2003. Radical scavenging activity of black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.), and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) crude seed oils and oil fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:6961-6969.
- Ramírez-Rodrigues, M. M.; M. L. Plaza; A. Azeredo; M. O. Balaban, and M. R. Marshall. 2012. Phytochemical, sensory attributes and aroma stability of dense phase carbon dioxide processed *Hibiscus sabdariffa* beverage during storage. *Food Chemistry* 134:1425-1431.
- Rizzo, P. V.; J. F. M. Menten; A. M. C. Racanicci; A. B. Traldi; C. S. Silva, and P. W. Z. Pereira. 2010. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39:801-807.
- Sarker, M. S. K.; S. Y. Ko; G. M. Kim, and C. J. Yang. 2010. Effects of *Camellia sinensis* and mixed probiotics on the growth performance and body composition in broiler. *Journal of Medicinal Plants Research* 4:546-550.
- Shahidi, F.; P. Janitha, and P. Wanasundara. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical reviews in Food Science & Nutrition* 32:67-103.
- Silva, F. A.; M. F. M. Borges, and M. A. Ferreira. 1999. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova* 22:94-103.
- Smet, K.; K. Raes; G. Huyghebaert; L. Haak; S. Arnouts, and S. De Smet. 2008. Lipid and protein oxidation of broiler meat as influenced by dietary natural antioxidant supplementation. *Poultry Science* 87:1682-1688.
- Takemoto, E.; J. Teixeira Filho, and H. T. Godoy. 2009. Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. *Química Nova*.
- Vieira, M. A.; M. Maraschin; C. M. Pagliosa; R. Podestá; K. N. De Simas; I. I. Rockenbach; R. D. d. Amboni, and E. R. Amante. 2010. Phenolic acids and methylxanthines composition and antioxidant properties of mate (*Ilex paraguariensis*) residue. *Journal of Food Science* 75.
- Windisch, W.; K. Schedle; C. Plitzner, and A. Kroismayr. 2008. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science* 86:E140-E148.
- Yanagimoto, K.; H. Ochi; K. G. Lee, and T. Shibamoto. 2003. Antioxidative activities of volatile extracts from green tea, oolong tea, and black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:7396-7401.
- Yang, Y.; P. Iji, and M. Choct. 2009. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. *World's Poultry Science Journal* 65:97-114.
- Yoda, Y.; Z. Q. Hu; T. Shimamura, and W.-H. Zhao. 2004. Different susceptibilities of *Staphylococcus* and Gram-negative rods to epigallocatechin gallate. *Journal of Infection and Chemotherapy* 10:55-58.
- Young, J. F.; J. Stagsted; S. K. Jensen; A. Karlsson, and P. Henckel. 2003. Ascorbic acid, alpha-tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. *Poultry Science* 82:1343-1351.

II – OBJETIVOS GERAIS

Objetivou-se com este trabalho estudar a adição de aditivos fitogênicos em pó (erva-mate, chá verde, hibisco e estévia) na alimentação de frangos de corte e poedeiras comerciais.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a adição de fitogênicos em pó (erva-mate, chá verde, hibisco e estévia) na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho, perfil bioquímico sérico, peso dos órgãos, morfometria intestinal e sistema imune humoral e celular na fase inicial de criação (Capítulo III).
2. Verificar a adição de níveis de fitogênicos em pó (erva-mate, chá verde, hibisco e estévia) na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho, perfil bioquímico sérico, peso dos órgãos, qualidade e oxidação lipídica da carne na fase final de criação (Capítulo IV).
3. Analisar a adição de fitogênicos em pó (erva-mate, chá verde, hibisco e estévia) na alimentação de poedeiras comerciais, com 33 semanas de idade, sobre o desempenho, perfil bioquímico sérico, qualidade dos ovos e oxidação lipídica da gema dos ovos, por períodos de até 60 dias armazenados em temperatura ambiente e refrigerado. (Capítulo V).

III – ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NA FASE INICIAL

(Normas: Journal of Poultry Science)

RESUMO - O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de aditivos fitogênicos em pó (erva-mate, chá verde, hibisco e estévia) na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho, perfil bioquímico sérico, morfometria intestinal e sistema imune humoral e celular, na fase de 1 a 21 dias de idade. Foram utilizados 700 frangos de corte Cobb[®] machos (1 dia de idade), distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos: Controle (isenta de aditivo); Controle + Erva-mate 0,5%; Controle + Chá verde 0,5%; Controle + Hibisco 0,5% e Controle + Estévia 0,5%, com sete repetições e 20 aves por unidade experimental. A suplementação dos aditivos fitogênicos, não influenciaram ($P>0,05$) o ganho de peso e consumo de ração das aves. Entretanto, aves suplementadas com erva-mate apresentaram melhor conversão alimentar ($P<0,05$) em relação as aves do tratamento controle. Não foi observado efeito ($P>0,05$) com a suplementação dos fitogênicos sobre o perfil bioquímico sérico, peso relativo dos órgãos do trato gastrointestinal e linfoides, e comprimento do intestino. A suplementação de erva-mate apresentou maior relação vilo:cripta no jejuno ($P<0,05$), quando comparado ao tratamento controle. Para a resposta imune celular, mediada pela fitohemaglutinina, houve interação ($P<0,05$) entre os fitogênicos e tempo de reação. No tempo de 24 horas pós-inoculação, a suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco apresentaram ($P<0,05$) menor reação inflamatória em comparação ao tratamento controle e a estévia. E no período de 48 horas, mantiveram a mesma relação, com menores valores de reação inflamatória com a suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco. Os fitogênicos proporcionaram menor ($P<0,05$) número de heterófilos e menor relação H/L quando comparado ao tratamento controle. Com a suplementação de chá verde e hibisco, houve maior ($P<0,05$) título de anticorpos em relação ao controle, não diferindo da erva-mate e estévia. Conclusão, o uso da erva-mate como aditivo, ao nível de 0,5%, na alimentação de frangos de corte durante a fase de 1 a 21 dias de idade pode melhorar a morfometria intestinal, podendo diminuir conversão alimentar. Do mesmo modo, a erva-mate, o chá verde, o hibisco e a estévia, podem reduzir o estresse das aves por seus conhecidos efeitos anti-inflamatório, como mostrou a redução na relação H/L. Além disso, o chá verde e o hibisco podem ser aditivos importantes para melhorar o sistema imune humoral.

Palavras-chave: antimicrobiano natural, desempenho, imunidade, morfometria intestinal, perfil bioquímico sérico

III - PHYTOGENIC ADDITIVES IN BROILERS FEEDS IN THE STARTER PHASE

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the use of powder phytogetic additives (yerba-mate, green tea, hibiscus and stevia) in broilers feeding on growth performance, serum biochemical profile, intestinal morphometry and humoral and cellular immune system, in phase from 1 to 21 days of age. A total of 700 broilers Cobb® male (1 day old) distributed in a completely randomized design with five treatments: Control (free of additive); Control + 0.5% yerba mate; Control + Green tea 0.5%; Control + Hibiscus 0.5% and Control + Estévia 0.5%, with seven replicates and 20 birds per experimental unit. The phytogetic supplementation did not influence ($P>0.05$) weight gain and feed intake of the birds. However, birds supplemented with yerba mate showed better feed conversion ($P<0.05$) than control birds. No effect ($P>0.05$) was observed with phytogetic supplementation on serum biochemical profile, gastrointestinal relative organs weight and lymphoid organs, and intestine length. The yerba mate supplementation presented higher villus: crypt in the jejunum ($P<0.05$) when compared to control treatment. For the cellular immune response, mediated by phytohemagglutinin, there was interaction ($P<0.05$) between phytogetics and reaction time. In the 24-hour post-inoculation period, the yerba mate, green tea and hibiscus presented supplementation a lower ($P<0.05$) inflammatory reaction compared to control and stevia treatments. And in the period of 48 hours, they maintained the same relation, with lower values of inflammatory reaction with yerba mate, green tea and hibiscus supplementation. Phytogetics provided lower ($P<0.05$) heterophiles number and lower H/L ratio when compared to control treatment. With green tea and hibiscus supplementation, there was a higher ($P<0.05$) titer of antibodies in relation to control, not differing from yerba mate and stevia. Yerba mate supplementation may improve feed conversion and intestinal morphometry in the jejunum. Likewise, green tea and hibiscus may be important additives to improve the cellular and humoral immune system, however, higher supplementation levels of these additives may be necessary to better response as to the productive performance of the birds.

Key words: immunity, intestinal morphometry, natural antimicrobial, performance, serum biochemical profile

INTRODUÇÃO

A utilização de aditivos na alimentação animal foi um dos fatores que contribuiu para o sucesso da avicultura moderna, como o uso de antibióticos como melhoradores de desempenho, utilizados nas rações em doses subterapêuticas, a fim de obter melhores índices zootécnicos, controlando agentes patogênicos, além de reduzir a mortalidade (Lee et al., 2004).

Por outro lado, o uso de antibióticos passou a ser visto como fator de risco para a saúde humana, pela possível presença de resíduos dos antimicrobianos nos produtos e a indução de resistência cruzada para bactérias patógenas para os consumidores. Com isso, a União Europeia, decidiu restringir o uso de antibióticos na alimentação animal (Huyghebaert et al., 2011), e o Brasil se adequou às exigências impostas para manter as exportações.

Para substituir os antibióticos na alimentação de frangos de corte, sem causar perdas na produtividade, uma das alternativas é o uso de aditivos fitogênicos, que são compostos derivados das plantas ou ervas, utilizados na forma de folhas ou extratos nas dietas animais (Koiyama et al., 2014).

Neste sentido, pode-se destacar a erva-mate (*Ilex paraguariensis*), chá verde (*Camellia sinensis*), hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) e a estévia (*Stevia rebaudiana*), por apresentarem elevados níveis de compostos bioativos, tornando-as interessante avaliar sua suplementação nas dietas das aves, a fim de melhorar o desempenho produtivo e ativar o sistema imunológico.

Estes possuem compostos bioativos, oriundos do metabolismo secundário das plantas, que apresentam propriedades antibacterianas e anti-inflamatória, beneficiando a morfometria intestinal das aves (Farahat et al., 2016), ao mesmo tempo que, diminui o número de bactérias patogênicas, podendo aumentar o tamanho dos vilos elevando a capacidade de digestão e absorção (Perić et al., 2010), melhorando a eficiência alimentar (Sarker et al., 2010) e ação imunomoduladora (Dong et al., 2016).

Desta forma, objetivou-se avaliar os efeitos dos aditivos fitogênicos em pó, erva-mate, chá verde, hibisco e estévia, na alimentação de frangos de corte durante a fase inicial de criação sobre o desempenho, perfil bioquímico sérico, morfometria intestinal e sistema imunológico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UEM (Registro Nº 7413140917).

Foram utilizados 700 frangos de corte machos com 1 dia de idade, da linhagem comercial Cobb[®], distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, em cinco tratamentos: Controle (isenta de aditivo); Controle + Erva-mate 0,5%; Controle + Chá verde 0,5%; Controle + Hibisco 0,5% e Controle + Estévia 0,5%, com sete repetições e 20 aves por unidade experimental, no período de 1 a 21 dias de idade.

As aves foram alojadas em galpão climatizado, com sistema de ventilação de pressão negativa e placa evaporativa, subdivididos em boxes de 1,0 x 2,0 metros, com cama de casca de arroz reutilizada uma vez. No décimo dia de idade, as aves foram vacinadas contra a doença de Newcastle, via ocular, utilizando vacina industrializada com vírus vivo (New-Vacin, Biovet[®]). Foram utilizados bebedouros do tipo *nipple* e comedouros tubulares. O fornecimento de ração e água foram *ad libitum*. O aquecimento inicial foi fornecido a partir de campânulas de lâmpadas infravermelha e o programa de luz foi de 23 horas de luz por dia.

As dietas experimentais foram formuladas à base de milho e farelo de soja (Tabela 1), utilizando-se os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos, de desempenho médio, para fase inicial, conforme Rostagno et al. (2011).

Os aditivos fitogênicos foram adicionados na forma de folhas moídas, e foram passados em moinho do tipo faca, com peneira de furos de 2,5 mm de diâmetro. A erva-mate (*Ilex Paraguariensis*) utilizada foi um produto comercial (Erva Mate 81[®], Guarapuava-PR, Brasil) peneirada para obter somente as folhas. As folhas de chá verde (*Camellia Sinensis*) foram obtidas da empresa “Chás Campo Verde[®]”, localizada em Curitiba-PR, Brasil. O hibisco (*Hibiscus sabdariffa L.*) utilizado proveniente do cálice do fruto seco, obtida pela “Unilife[®]”, localizada em Maringá. O subproduto da estévia (*Stevia rebaudiana*), foi obtido do processamento da extração industrial dos edulcorantes das folhas da planta (Ingá Stevia Industrial S/A, Maringá-PR, Brasil).

Tabela 1. Composição percentual e calculada da dieta controle para frangos de corte, desempenho médio, de 1 a 21 dias de idade.

Ingredientes	Quantidade (kg)
Milho	55,72
Farelo de soja 45%	36,81
Óleo de soja	2,60
Fosfato bicálcico	1,70
Calcário calcítico	0,80
Sal comum	0,49
Supl. mineral e vitamínico ¹	0,40
Inerte (Caulim) ²	0,80
DL-Metionina 99%	0,33
L-Lisina HCl 78,5%	0,25
L-Treonina 98%	0,08
Composição calculada	
Proteína Bruta (%)	21,50
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.975
Cálcio (%)	0,87
Fósforo Disponível (%)	0,43
Lisina Digestível (%)	1,24
Metionina+Cistina Digestível (%)	0,90
Treonina Digestível (%)	0,81
Sódio (%)	0,22
Cloro (%)	0,20
Potássio (%)	0,59

¹Suplemento vitamínico e mineral para fase inicial (Conteúdo por kg de ração): Vit. A (acetato de retinol), 11000,00 UI/kg; Vit. D3 (colecalfiferol), 2200,00 UI/kg; Vit. E (acetato de dl- α -tocoferol), 35,00 UI/kg; Vit. B1 (tiamina), 1,52 mg/kg; Vit. B2 (riboflavina), 5,00 mg/kg; B6 (piridoxina), 2,40 mg/kg; Vit. B12 (cianocobalamina), 16,00 mcg/kg; Vit. K3 (menadiona dimetilpirimidinol), 1,68 mg/kg; Pantotenato de cálcio 12,00 mg/kg; Niacina, 35,00 mg/kg; Ácido fólico, 0,70 mg/kg; Biotina, 0,07 mg/kg; Colina, 260 mg/kg; BHT (hidroxitolueno butilado), 4,00 mg/kg; Zinco, 56,00 mg/kg; Ferro 48,00 mg/kg; Manganês, 60,00 mg/kg; Cobre, 10,80 mg/kg; Iodo, 1,00 mg/kg; Cobalto, 0,20 mg/kg; Selênio, 0,29 mg/kg.

²Inerte (Caulim) – A adição dos fitogênicos foi em substituição ao inerte.

Compostos fenólicos e flavonoides totais dos fitogênicos

Para determinação do teor de compostos fenólicos totais dos fitogênicos (Tabela 2), foram obtidos extratos hidroalcoólicos, realizados em triplicatas, segundo a metodologia de Bloor (2001). Uma amostra de 0,5 gramas foi misturada com 20 mililitros de metanol: água (60:40 v/v) em agitação a 1800 rpm, em temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 1.000 rpm por 10 minutos. Uma alíquota de 100 μ L foi transferida para tubos de ensaio devidamente protegidos da luz, e adicionado 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 0,5 mL de carbonato de sódio (7,5%), seguindo-se de agitação em vortex. Após 30 minutos em repouso, a absorbância foi mensurada em

765 nm em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific®, Evolution 300, Pittsburgh EUA) (Singleton, 1999). Através da equação da curva de calibração e com os valores das absorbâncias das amostras, realizou-se o cálculo do teor de compostos fenólicos totais, expresso em mg de ácido gálico/100 g de amostra.

Tabela 2. Concentração de compostos fenólicos e flavonoides (mg eq. AG/100g de amostra) dos aditivos fitogênicos.

Aditivos	Polifenóis	Flavonoides
Erva-mate	476,11	163,30
Chá verde	426,07	201,02
Hibisco	321,15	139,80
Estévia	125,72	14,74

Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal - UEM.
mg eq. AG= miligramas equivalentes de ácido gálico.

Desempenho produtivo

Para a determinação das características de desempenho produtivo, as aves e as sobras de rações foram pesadas semanalmente, de 1 a 21 dias de idade, sendo posteriormente, calculados os valores de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Em caso de mortalidade das aves, a ração e a ave morta foram pesadas para correção do consumo de ração.

Perfil bioquímico sérico

Aos 21 dias de idade, foram colhidas amostras de sangue, sem jejum, através da veia jugular, de duas aves por unidade experimental. Uma amostra foi colhida com anticoagulante (EDTA) para obtenção do plasma sanguínea e outra amostra, sem anticoagulante, para realização do esfregaço sanguíneo e para obtenção do soro. As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos, posteriormente os sobrenadantes foram transferidos para tubos de polietileno e armazenados em freezer até a realização das análises. Foram determinadas as concentrações séricas de colesterol total, triglicerídeos, glicose, e lipoproteína de alta densidade (HDL), com a utilização de kits comerciais (Gold Analisa Ltda, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Peso relativo dos órgãos

Aos 21 dias de idade, uma ave por unidade experimental, com peso representativo (média±5%), foi submetida a eutanásia com o uso de tiopental (20mg/kg), seguida de

deslocamento cervical, para determinação do peso relativo dos órgãos linfoides (baço, bolsa cloacal e timo) e do trato gastrointestinal (intestino delgado, fígado e pâncreas). Os órgãos foram pesados em balança de precisão (0,001g) e calculado o peso relativo dos órgãos, em relação ao peso vivo da ave, por meio da fórmula: (peso do órgão/peso vivo) x 100.

Morfometria intestinal

Das mesmas aves sacrificadas para a colheita dos órgãos, aos 21 dias de idade, o intestino delgado foi mensurado através de uma régua, para obter o comprimento do intestino, posteriormente coletados fragmentos de 2 cm do duodeno e do jejuno, sendo considerado o duodeno a partir do piloro até a porção distal da alça duodenal, e o jejuno a partir da porção distal da alça duodenal até o divertículo vitelínico. As amostras foram abertas longitudinalmente, fixadas em placas de isopor, lavadas com solução fisiológica (0,9% NaCl) e acondicionadas em frascos contendo solução de formalina tamponado (10%), para fixação dos tecidos até a realização da análise. Após a fixação, os fragmentos foram desidratados em uma série de concentrações crescentes de álcoois, diafanizados em xilol e incluídos em parafina (Luna, 1968). Foram realizados cortes histológicos, através de um micrótomo rotativo (Leica-RM 2245), com cinco micrômetros de espessura, semisseriados e transversais, até obter três cortes por lâmina, sendo depois corados pelo método de Hematoxilina-Eosina. A captura das imagens foi realizada através de uma câmera digital de alta resolução (Moticam 2500 – 5.0M pixel), acoplada ao microscópio MOTIC BA400 e ao analisador de imagem computadorizado MOTIC IMAGE PLUS 2.0. Foram efetuadas 40 medidas (20 medidas para altura de vilos e 20 para profundidade de cripta) por lâmina para cada segmento. A altura dos vilos foram medidas a partir da região basal do vilos, coincidente com a porção superior das criptas, até seu ápice, as criptas foram da sua base até a região de transição cripta/vilos.

Contagem diferencial de leucócitos

Foi realizada a contagem diferencial leucocitária por meio de esfregaço sanguíneo, em lâminas de vidro, corado pelo método de May Grunwald – Giemsa, de uma ave por unidade experimental, aos 21 dias de idade. Foram utilizadas lâminas foscas e os esfregaços foram analisados com auxílio de microscópio óptico (Motic[®], ds 300, Xiemen, China), com objetiva de 1000x (objetiva de imersão). A contagem diferencial leucocitária foi realizada de acordo com Noriega (2000), com contagem classificatória para linfócitos,

heterófilos, eosinófilos, monócitos e basófilos, calculando a proporção de cada leucócito em cem células contadas/lâmina. A relação heterófilo/linfócito foi determinada dividindo-se o número de heterófilos pelo número de linfócitos por lâmina.

Título de anticorpos

Para a determinação de título de anticorpos contra a doença de Newcastle, as aves foram vacinadas contra a doença de Newcastle via ocular no décimo dia de idade e realizada a coleta do soro sanguíneo de uma ave por unidade experimental aos 21 dias de idade. A coleta foi realizada por punção da veia jugular. A detecção de título de anticorpos contra a Doença Newcastle foi realizada por kit comercial imunoenzimático *Enzime Linked Immunossorbent Assay* (ELISA). Os títulos avaliados foram referentes à resposta vacinal.

Resposta imune celular

Aos 21 dias de idade, foram utilizadas sete aves por tratamento para avaliação da resposta imune celular, através da hipersensibilidade interdigital a fitohemaglutinina, segundo o protocolo descrito por Corrier and DeLoach (1990). Foram inoculados intradermicamente, entre a terceira e a quarta prega interdigital do pé direito, 0,1 mL de fitohemaglutinina (Vitrocell®) para estimular a proliferação celular dos linfócitos T. No pé esquerdo foi aplicado o mesmo volume de solução salina, como controle negativo. O espessamento da pele, em ambos os pés, foi aferido em milímetros com auxílio de um paquímetro digital, antes da inoculação (tempo zero) e 6, 12, 24 e 48 horas após. O cálculo da reação apresentou-se da seguinte forma: $\text{Reação} = \text{resposta a fitohemaglutinina} - \text{resposta controle}$. Em que, a resposta a fitohemaglutinina foi obtida pela espessura da pele, após o tempo de inoculação, menos a espessura no tempo zero (antes da inoculação) do pé direito. A resposta controle foi obtida pela espessura da pele, após o tempo de inoculação, menos a espessura no tempo zero (antes da inoculação) do pé esquerdo.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com auxílio do procedimento General Linear Model (GLM) do programa estatístico SAS (SAS 9.0 Institute, 2009) ao nível de significância de 5%. As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a análise de reação interdigital a fitohemaglutinina, foi realizado uma regressão para o tempo de avaliação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inclusão dos aditivos fitogênicos, erva-mate, chá verde, hibisco e estévia nas rações de frangos de corte, de 1 a 21 dias de idade, não influenciaram ($P>0,05$) o ganho de peso e o consumo de ração das aves (Tabela 3). Entretanto, as aves que receberam ração com suplementação de erva-mate apresentaram melhor conversão alimentar ($P<0,05$), quando comparado ao tratamento controle, mas não diferiu dos demais tratamentos ($P>0,05$).

O efeito positivo da erva-mate para a conversão alimentar, pode estar relacionado com a grande concentração de polifenóis (476,11mg eq. AG/100g de amostra), presentes neste aditivo, como os derivados do cafeoil, ácido clorogênico, quercitinas, rutinas e teobrominas, os quais possuem alta atividade antimicrobiana frente a bactérias, fungos e vírus (Burris et al., 2011; Burris et al., 2015). Isso pode ter acarretado em melhor saúde intestinal das aves, favorecendo a microbiota benéfica, resultando em melhor aproveitamento da dieta e menor gasto energético no trato gastrointestinal para a manutenção da sua integridade (McReynolds et al., 2009), resultando em melhor eficiência alimentar (Racanicci et al., 2011). Os compostos fenólicos têm potencial hidrofóbico, atuando de modo a desintegrar a membrana celular bacteriana, levando a liberação dos constituintes citoplasmáticos e morte celular (Cardona et al., 2013), favorecendo desta forma, a saúde intestinal das aves, levando a um maior aproveitamento dos nutrientes.

A estévia e seu extrato, esteviosídeo, têm propriedades antimicrobianas que podem influenciar a população microbiana do intestino (Geuns et al., 2003). Considerando a má absorção intestinal dos esteviosídeos e às propriedades antimicrobianas da estévia, pode ser utilizada como aditivo prebiótico, porém, a suplementação com folhas de estévia ou esteviosídeo podem causar a diminuição e alteração no perfil dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no ceco, podendo haver a redução na concentração de acetato e butirato e aumento de propionato, possivelmente pela mudança da microbiota (Atteh et al., 2008). A diminuição de AGCC podem prejudicar parcialmente o desempenho animal. Pelo fato dos AGCC fornecerem substrato energético/modulador para o desenvolvimento do intestino (Mountzouris et al., 2015).

Tabela 3. Desempenho (média \pm desvio padrão) de frangos de corte suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas durante a fase de 1 a 21 dias de idade.

Aditivos	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar (g/g)	Consumo de polifenóis (mg)	Consumo de flavonoides (mg)
Controle	762.3 \pm 28.3	1080.3 \pm 32.4	1.416 \pm 0.006 a	0,00	0,00
Erva-mate	758.2 \pm 34.1	1048.3 \pm 34.4	1.384 \pm 0.011 b	25,71	7,36
Chá verde	730.1 \pm 14.9	1015.4 \pm 31.9	1.395 \pm 0.010 ab	22,32	10,53
Hibisco	757.4 \pm 13.3	1067.0 \pm 49.9	1.410 \pm 0.014 ab	16,30	7,10
Estévia	764.9 \pm 35.5	1071.5 \pm 21.0	1.404 \pm 0.011 ab	6,71	0,79
CV (%)	3.63	3.57	1.04		
<i>P-Valor</i>	0.387	0.549	0.026		

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). CV= Coeficiente de variação.

Para o perfil bioquímico sérico, não houve efeito (P>0,05) dos aditivos fitogênicos avaliados nas rações das aves, para as concentrações de colesterol total, triglicerídeos, glicose e lipoproteínas de alta densidade (HDL) na fase inicial de criação (Tabela 4).

Os fitogênicos podem ter a capacidade de diminuir a quantidade de colesterol sérico pela ação dos polifenóis sobre a ação das lipases pancreáticas, reduzindo a absorção do colesterol dietético (Li et al., 2015). Os polifenóis podem regular a síntese de ácidos graxos e os genes relacionados à lipólise, incluindo a carnitina palmitoil transferase I e acil-CoA oxidase 1 (Choi et al., 2015; Huang et al., 2013).

Os polifenóis demonstram inibir a atividade das enzimas lipase gástrica e pancreática *in vitro*, sugerindo que podem interferir na emulsificação dos lipídeos da dieta, dificultando a digestão e absorção de lipídeos, consequentemente diminuir lipoproteínas e triglicerídeos no sistema circulatório (Juhel et al., 2000; Löest et al., 2002). Os polifenóis têm capacidade de poder prevenir a formação do LDL oxidado e elevar a capacidade antioxidante total do sangue (Manach et al., 2004).

O chá verde possui teores de flavonoides, principalmente as catequinas que podem apresentar efeito inibitório sobre a absorção intestinal de lipídeos em ratos (Muramatsu et al., 1986; Koo and Noh 2007). Por outro lado, a adição de 2000 mg/kg de extrato (Farahat et al., 2016) ou 500 mg/kg de extrato de chá verde nas dietas de frangos de corte (Khalaji et al., 2011), não observaram efeito sobre o perfil de lipídeos no soro de frangos de corte, corroborando com os resultados deste estudo com a adição de 5000 mg/kg de fitogênicos em pó. As folhas de estevia pode causar diminuição da glicose, pelo efeito anti-hiperglicêmico do esteviosídeo e o steviol, por estimular a secreção de insulina através de uma ação direta sobre as células β no fígado (Jeppesen et al., 2000).

Tabela 4. Perfil bioquímico sérico (mg/dL) (média \pm desvio padrão) de frangos de corte aos 21 dias de idade suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Colesterol total	Triglicerídeos	Glicose	HDL
Controle	107.7 \pm 12.3	67.9 \pm 18.9	218.5 \pm 15.8	45.9 \pm 1.62
Erva-mate	105.5 \pm 9.45	64.5 \pm 8.7	210.3 \pm 17.2	44.8 \pm 2.78
Chá verde	106.3 \pm 8.7	58.6 \pm 14.3	205.9 \pm 28.3	43.2 \pm 2.20
Hibisco	106.0 \pm 14.1	60.3 \pm 14.7	201.8 \pm 11.9	45.1 \pm 1.88
Estévia	104.8 \pm 9.2	62.7 \pm 6.9	210.2 \pm 13.6	45.3 \pm 3.62
CV (%)	1.56	2.01	8.29	9.81
<i>P-Valor</i>	0.08	0.62	0.231	0.673

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).
CV= Coeficiente de variação

Para os pesos relativos dos órgãos do trato gastrointestinal e linfoides, não foi observado efeito ($P > 0,05$) da adição dos fitogênicos nas dietas sobre o desenvolvimento dos órgãos nas aves com 21 dias de idade (Tabela 5).

Suplementando as dietas de frangos de corte com extrato hidroalcoólico de chá verde (0,1 g/kg ou 0,2 g/kg), Erener et al. (2011) observaram que as propriedades antimicrobianas e imunomoduladoras das catequinas podem beneficiar a estabilidade da eubiose no intestino. Isso pode resultar em menor gasto energético no trato gastrointestinal para manutenção da sua integridade, diminuindo a taxa de “turnover” (Niewold, 2007), com tendência para menores peso relativo e comprimento do intestino para aves suplementadas com 0,2 g/kg do extrato de chá verde.

A bolsa cloacal e o timo são órgãos fundamentais para o processo de maturação de linfócitos B e T, respectivamente (Masteller and Thompson, 1994), entretanto, um peso maior dos órgãos linfoides não reflete completamente em maior número de linfócitos nestes órgãos (Ferreira et al., 2009).

Tabela 5. Peso relativo dos órgãos (%) e comprimento do intestino delgado (cm) (média \pm desvio padrão) de frangos de corte com 21 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.

	Controle	Erva-mate	Chá verde	Hibisco	Estévia	CV (%)	<i>P-Valor</i>
Fígado	2.75 \pm 0.29	3.01 \pm 0.19	3.26 \pm 0.36	3.02 \pm 0.37	2.92 \pm 0.19	9.24	0.138
Pâncreas	0.38 \pm 0.03	0.36 \pm 0.02	0.35 \pm 0.02	0.37 \pm 0.03	0.36 \pm 0.04	7.39	0.648
Intestino	4.28 \pm 0.20	4.11 \pm 0.27	4.22 \pm 0.19	4.25 \pm 0.34	4.16 \pm 0.31	6.04	0.862
Timo	0.50 \pm 0.06	0.47 \pm 0.08	0.48 \pm 0.05	0.49 \pm 0.07	0.48 \pm 0.04	12.08	0.965
Baço	0.10 \pm 0.02	0.10 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.09 \pm 0.03	0.10 \pm 0.02	17.66	0.827
Bolsa cloacal	0.23 \pm 0.04	0.21 \pm 0.03	0.25 \pm 0.05	0.22 \pm 0.04	0.23 \pm 0.09	17.27	0.557
C. Intestino	155.40 \pm 7.20	149.25 \pm 8.95	154.20 \pm 5.54	153.01 \pm 8.80	152.20 \pm 5.40	4.51	0.768

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).
CV= Coeficiente de variação.

Para a morfometria intestinal do duodeno e do jejuno das aves, aos 21 dias de idade, a adição dos fitogênicos avaliados não apresentaram efeito ($P>0,05$) sobre a altura de vilos e profundidade de cripta no duodeno e jejuno, e nem para a relação vilos:cripta no duodeno. Entretanto, houve efeito ($P<0,05$) sobre a relação vilos:cripta no jejuno, em que as aves que receberam adição da erva mate na ração apresentaram maior relação quando comparado ao tratamento controle, e não diferindo dos demais tratamentos (Tabela 6). Esta melhor relação vilos:cripta no jejuno, é por causa da maior altura de vilos e menor profundidade de cripta em relação ao controle. Khalaji et al. (2011) observaram melhora na absorção dos nutrientes da dieta, adicionando extrato de chá verde (0,3 e 0,5 g/kg) nas dietas de frangos de corte nas fases de 1 a 21 e 21 a 42 dias de idade, resultado obtido pela melhor morfometria intestinal, ou seja, maior comprimento das vilosidades e menor profundidade das criptas.

Tabela 6. Altura de vilos (μm), profundidade de cripta (μm) e relação vilos:cripta (média \pm desvio padrão) de frangos de corte aos 21 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Altura de vilos		Profundidade de cripta		Vilos:Cripta	
	Duodeno	Jejuno	Duodeno	Jejuno	Duodeno	Jejuno
Controle	1280.1 \pm 123.5	582.1 \pm 84.1	220.1 \pm 29.9	125.6 \pm 23.8	5.82 \pm 0.61	4.63 \pm 0.95 b
Erva-mate	1324.8 \pm 165.5	620.3 \pm 64.5	223.5 \pm 32.3	114.1 \pm 20.3	5.93 \pm 0.93	5.44 \pm 1.45 a
Chá verde	1328.3 \pm 160.1	606.2 \pm 45.3	222.9 \pm 46.5	119.6 \pm 25.1	5.96 \pm 1.39	5.07 \pm 0.93 ab
Hibisco	1319.8 \pm 130.7	611.2 \pm 72.5	224.2 \pm 24.6	121.6 \pm 18.8	5.89 \pm 0.82	5.03 \pm 0.77 ab
Estévia	1312.2 \pm 131.9	601.5 \pm 99.9	223.6 \pm 25.5	122.1 \pm 25.3	5.87 \pm 0.98	4.93 \pm 0.88 ab
CV (%)	10.80	12.88	14.56	18.65	15.85	21.10
<i>P-valor</i>	0.412	0.096	0.977	0.124	0.967	0.011

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).
CV= Coeficiente de variação.

Os compostos bioativos presentes na erva-mate atuam como antimicrobianos e imunomoduladores, promovendo a melhoria da saúde das aves, reduzindo o crescimento de agentes patogênicos na microflora intestinal, prevenindo possíveis infecções subclínicas (Jang et al., 2007), e aumentando a produção de muco intestinal, estimulando a digestão e absorção dos nutrientes (Hong et al., 2012). Estes efeitos estão diretamente ligados a relação vilos:cripta, pois, há equilíbrio normal entre perda e proliferação celular no epitélio intestinal em resposta a agentes externos estimuladores (Uni et al., 1999), como os microrganismos e toxinas. Quando se tem menor carga de bactérias patogênicas e há taxa de proliferação maior que taxa de descamação ou perda celular, o tamanho ou

densidade dos vilos conseqüentemente irá aumentar, elevando a capacidade de digestão e absorção, aumentando a superfície de contato (Perić et al., 2010).

A adição dos fitogênicos nas dietas de frangos de corte, durante a fase inicial de criação, influenciou ($P < 0,05$) a contagem de linfócitos, heterófilos, relação heterófilo:linfócito. Entretanto, não houve efeito ($P > 0,05\%$) para basófilo, monócito e eosinófilo, no sangue das aves aos 21 dias de idade (Tabela 7).

A adição de erva-mate, chá verde e hibisco nas dietas de frangos de corte, de 1 a 21 dias de idade, apresentou maior ($P < 0,05$) concentração de linfócitos sanguíneos quando comparado com aves do tratamento controle e com estévia. Além disso, todos os fitogênicos proporcionaram menor ($P < 0,05$) número de heterófilos no sangue das aves quando comparados com o tratamento controle. O aumento no número de linfócitos e menor proporção de heterófilos, resultou em menor relação H/L ($P < 0,05$) para as aves que receberam dietas contendo aditivos fitogênicos, com o menor valor para o grupo com hibisco quando comparado com o tratamento controle e a estévia. A relação H/L é um indicador primário de estresse em aves (Gross and Siegel, 1983). O estresse em aves acarreta em aumento na porcentagem de heterófilos, além da diminuição na porcentagem de linfócitos (McFarlane and Curtis, 1989). As condições ambientais, especialmente nos sistemas de criação intensiva, podem gerar estresse. Por isso, são recomendadas substâncias naturais como probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos ou produtos derivados de plantas para a redução do estresse (Cetin et al., 2011; Ghareeb et al., 2008; Windisch et al., 2008). Assim, os aditivos fitogênicos, erva-mate, chá verde, hibisco e a estévia, ao nível de 0,5%, podem reduzir o estresse das aves desafiadas imunologicamente, possivelmente por seus conhecidos efeitos anti-inflamatórios, como mostra a redução na relação H/L comparados com o tratamento controle.

Houve efeito ($P < 0,05$) dos fitogênicos sobre os títulos de anticorpos séricos contra o vírus da doença de Newcastle aos 21 dias de idade. As aves que receberam adição de chá verde e hibisco apresentaram maior título de anticorpos em relação ao tratamento controle, que por sua vez, não diferiram dos grupos suplementados com erva-mate e estévia (Tabela 7). O uso dos chá verde e hibisco nas dietas de frangos de corte podem melhorar a resposta de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle e subsequentemente pode ser utilizado como ferramenta para aumentar a eficácia da vacinação e efeito imunoestimulante humoral (Farahat et al., 2016). A propriedade antioxidante, pode manter as células do sistema imunológico e protegê-las do meio ambiente adverso e estresse oxidativo, com a subseqüente proliferação e diferenciação

dos linfócitos B em células do plasma produtoras de anticorpos (Khan et al., 2016). Além disso, os polifenóis mostram a capacidade para induzir a interleucina-10 e a expressão de Foxp3, aumentando a população de células T no baço e nos nódulos linfáticos (Wong et al., 2011).

Os polifenóis são os principais compostos responsáveis pela atividade adjuvante em ratos, melhorando a resposta imune humoral, pelo aumento do número de células B secretadas no baço. Os efeitos adjuvantes são componentes que aumentam a imunogenicidade de um antígeno para aumentar a imunidade protetora contra doenças infecciosas e não infecciosas (Khan et al., 2016).

Tabela 7. Contagem diferencial de leucócitos (%), relação H/L e título de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle (média \pm desvio padrão) de frangos de corte aos 21 dias de idade suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Linfócito	Heterófilo	H/L	Basófilo	Monócito	Eosinófilo	T. Anticorp.
Controle	50.63 b	42.88 a	0.85 a	3.12	2.89	0.54	2.930 b
Erva-mate	55.00 a	39.00 b	0.72 bc	2.27	2.82	1.00	3.109 ab
Chá verde	56.86 a	38.00 b	0.67 bc	2.20	2.40	0.60	3.191 a
Hibisco	57.00 a	36.89 b	0.65 c	2.83	2.50	0.83	3.274 a
Estévia	52.11 b	40.40 b	0.78 b	3.20	3.40	0.67	3.056 ab
CV (%)	8.27	9.31	16.44	76.63	92.96	108.98	4.58
<i>P-Valor</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.664	0.786	0.567	0.011

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).
CV= Coeficiente de variação; H/L= Heterófilo:Linfócito; T. Anticorp.= Título de anticorpos.

Para a resposta celular interdigital cutânea a fitohemaglutinina, foi observado interação ($P<0,05$) entre os fitogênicos e o tempo de reação (Tabela 8). No tempo de 24 horas pós-inoculação, a suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco apresentaram ($P<0,05$) menor reação inflamatória em comparação ao tratamento controle, não diferindo da estévia. No período de 48 horas pós-inoculação, as aves suplementadas com erva-mate, chá verde e hibisco obtiveram menores valores da reação a fitohemaglutinina, quando comparados ao tratamento controle e a estévia.

Conforme aumentou o tempo da reação, os tratamentos com suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco, apresentaram efeito quadrático ($P<0,05$), sendo estimado o ponto de máxima para reação celular da espessura cutânea em 36, 33 e 34 horas, respectivamente (Tabela 9). O tratamento controle e a suplementação de estévia apresentaram comportamento linear crescente ($P<0,05$) conforme o tempo da reação foi aumentando. Estes resultados mostram o efeito anti-inflamatório da erva-mate, chá verde e hibisco, ou seja, houve um pico e posteriormente redução da espessura da inflamação

dentro do tempo avaliado de até 48 horas pós inoculação. A suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco nas dietas de frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade, melhoraram a imunidade celular com proliferação maior das células T, possivelmente devido ao efeito anti-inflamatório dos compostos bioativos presentes nestes aditivos, não sendo observado este efeito para as aves suplementadas com estévia.

A utilização de extrato de erva-mate na ração de camundongos, diminuiu a expressão gênica das citocinas IL-6, TNF- α e iNOS hepático e muscular, indicando que o extrato de erva-mate diminui a resposta inflamatória (Arçari et al., 2011).

A resposta a fitohemaglutinina, também chamada de resposta celular é especializada em eliminar antígenos intracelulares, liberando citocinas pelos linfócitos T “helper” Th1 (Erf, 2004). No entanto, a espessura medida no local da aplicação podem revelar processos de reação imune inata, e não apenas uma reação celular (Koutsos et al., 2007).

Tabela 8. Reação interdigital a fitohemaglutinina (mm) em frangos de corte com 21 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.

Aditivos	6h	12h	24h	48h	Horas/ Tratamento
Controle	0.228 Ca	0.303 Ba	0.472 Aa	0.491 Aa	$L^1=<0.001$
Erva-mate	0.251 Ca	0.333 Ba	0.418 Ab	0.424 Abc	$Q^3=0.0312$
Chá verde	0.243 Ca	0.332 Ba	0.422 Ab	0.392 Ac	$Q^4=0.0005$
Hibisco	0.239 Ca	0.341 Ba	0.420 Ab	0.412 Abc	$Q^5=0.0026$
Estévia	0.226 Ca	0.309 Ba	0.469 Aab	0.485 Aa	$L^2=<0.001$
CV (%)	9.91	9.42	8.62	10.66	
<i>P-Valor</i>					
Tratamento			0.334		
Tempo			<0.001		
Tratamento x Tempo			0.027		

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna e maiúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (efeito do aditivo dentro de cada tempo) ($P<0,05$).

CV= Coeficiente de variação

¹ $Y = 0.00608x + 0.23678$ ($R^2 = 0.92$)

² $Y = 0.00589x + 0.23977$ ($R^2 = 0.92$)

³ $Y = 0.16783 + 0.01585x - 0.00021946x^2$ ($R^2 = 0.98$); ponto de máxima: 36,11

⁴ $Y = 0.13967 + 0.01922x - 0.00029122x^2$ ($R^2 = 0.94$); ponto de máxima: 33,00

⁵ $Y = 0.15056 + 0.01768x - 0.00025543x^2$ ($R^2 = 0.98$); ponto de máxima: 34,61

CONCLUSÃO

O uso da erva-mate, ao nível de 0,5% ou 5 g/kg de dieta, na alimentação de frangos de corte durante a fase de 1 a 21 dias de idade podem melhorar a morfometria intestinal e a conversão alimentar e reduzir o estresse das aves por seus conhecidos efeitos anti-

inflamatórios como a erva-mate, chá verde e hibisco, como mostrou a redução na relação H/L. Além disso, o chá verde e o hibisco podem ser aditivos importantes para melhorar o sistema imune humoral.

REFERÊNCIAS

- Arçari, D. P.; W. Bartchewsky Jr; T. W. Dos Santos; K. A. Oliveira; C. C. Oliveira; E. M. Gotardo; J. Pedrazzoli Jr; A. Gambero; L. F. Ferraz, and P. D. O. Carvalho. 2011. Anti-inflammatory effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) ameliorate insulin resistance in mice with high fat diet-induced obesity. *Molecular and cellular endocrinology* 335:110-115.
- Bloor, S. J. 2001. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Methods in enzymology* 335:3-14.
- Burris, K. P.; K. L. Higginbotham, and C. N. Stewart Jr. 2015. Aqueous extracts of yerba mate as bactericidal agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a microbiological medium and ground beef mixtures. *Food Control* 50:748-753.
- Burris, K. P.; P. M. Davidson; C. N. Stewart Jr, and F. M. Harte. 2011. Antimicrobial activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) aqueous extracts against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Science* 76.
- Cardona, F.; C. Andrés-Lacueva; S. Tulipani; F. J. Tinahones, and M. I. Queipo-Ortuño. 2013. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 24:1415-1422.
- Cetin, E.; B. K. Guclu, and N. Cetin. 2011. Effect of dietary humate and organic acid supplementation on social stress induced by high stocking density in laying hens. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10:2402-2407.
- Choi, A. J.; N. Buisson, and C. T. Kim. 2015. Digestion characteristics and kinetic analysis of bio-molecules in a simulated human intestinal system. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism* 2:189-192.
- Corrier, D., and J. DeLoach. 1990. Evaluation of cell-mediated, cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. *Poultry Science* 69:403-408.
- Dong, Z.; Y. Wang; D. Song; Y. Hou; W. Wang; W. Qi; T. Yun, and A. Li. 2016. The effects of dietary supplementation of pre-microencapsulated *Enterococcus faecalis* and the extract of *Camellia oleifera* seed on growth performance, intestinal morphology, and intestinal mucosal immune functions in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 212:42-51.
- Erener, G.; N. Ocak; A. Altop; S. Cankaya; H. M. Aksoy, and E. Ozturk. 2011. Growth performance, meat quality and caecal coliform bacteria count of broiler chicks fed diet with green tea extract. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 24:1128-1135.
- Erf, G. 2004. Cell-mediated immunity in poultry. *Poultry Science* 83:580-590.
- Farahat, M.; F. Abdallah; T. Abdel-Hamid, and A. Hernandez-Santana. 2016. Effect of supplementing broiler chicken diets with green tea extract on the growth performance, lipid profile, antioxidant status and immune response. *British Poultry Science* 57:714-722.
- Ferreira, S. R.; A. E. Murakami; T. G. Siqueira; J. M. G. d. Santos; A. Potença, and T. C. d. Santos. 2009. Cellular immune response and hematological parameters of broilers

- from different age broiler breeders, fed with a sorghum meal with different yeast wall levels. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29:725-730.
- Geuns, J. M.; R. D. Malheiros; V. M. Moraes; E. M. P. Decuypere; F. Compennolle, and J. G. Buyse. 2003. Metabolism of stevioside by chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:1095-1101.
- Ghareeb, K.; W. Awad; S. Nitsch; S. Abdel-Raheem, and J. Böhm. 2008. Effects of transportation on stress and fear responses of growing broilers supplemented with prebiotic or probiotic. *International Journal of Poultry Science* 7:678-685.
- Gross, W., and H. Siegel. 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Diseases* 972-979.
- Hong, J.-C.; T. Steiner; A. Aufy, and T.-F. Lien. 2012. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. *Livestock Science* 144:253-262.
- Huang, J.; Y. Zhang; Y. Zhou; Z. Zhang; Z. Xie; J. Zhang, and X. Wan. 2013. Green tea polyphenols alleviate obesity in broiler chickens through the regulation of lipid-metabolism-related genes and transcription factor expression. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:8565-8572.
- Huyghebaert, G.; R. Ducatelle, and F. Van Immerseel. 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal* 187:182-188.
- Jang, S. I.; M.-H. Jun; H. S. Lillehoj; R. A. Dalloul; I.-K. Kong; S. Kim, and W. Min. 2007. Anticoccidial effect of green tea-based diets against *Eimeria maxima*. *Veterinary Parasitology* 144:172-175.
- Jeppesen, P. B.; S. Gregersen; C. Poulsen, and K. Hermansen. 2000. Stevioside acts directly on pancreatic β cells to secrete insulin: Actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K^+ -channel activity. *Metabolism* 49:208-214.
- Juhel, C.; M. Armand; Y. Pafumi; C. Rosier; J. Vandermander, and D. Lairon. 2000. Green tea extract (AR25[®]) inhibits lipolysis of triglycerides in gastric and duodenal medium in vitro. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 11:45-51.
- Khalaji, S.; M. Zaghari; K. Hatami; S. Hedari-Dastjerdi; L. Lotfi, and H. Nazarian. 2011. Black cumin seeds, *Artemisia* leaves (*Artemisia sieberi*), and *Camellia* L. plant extract as phyto-genic products in broiler diets and their effects on performance, blood constituents, immunity, and cecal microbial population. *Poultry Science* 90:2500-2510.
- Khan, A.; N. H. Ali; V. Santercole; B. Paglietti; S. Rubino; S. U. Kazmi, and A. Farooqui. 2016. *Camellia sinensis* Mediated Enhancement of Humoral Immunity to Particulate and Non-particulate Antigens. *Phytotherapy Research* 30:41-48.
- Koiyama, N. T. G.; A. P. Rosa; M. T. S. Padilha; L. S. Boemo; A. Scher; A. M. da Silva Melo, and M. de Oliveira Fernandes. 2014. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 49:225-231.
- Koo, S. I., and S. K. Noh. 2007. Green tea as inhibitor of the intestinal absorption of lipids: potential mechanism for its lipid-lowering effect. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 18:179-183.
- Koutsos, E. A.; J. C. G. López, and K. C. Klasing. 2007. Maternal and dietary carotenoids interactively affect cutaneous basophil responses in growing chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 147:87-92.
- Lee, K.; H. Everts; H. Kappert; J. Van Der Kuilen; A. Lemmens; M. Frehner, and A. Beynen. 2004. Growth performance, intestinal viscosity, fat digestibility and plasma

- cholesterol in broiler chickens fed a rye-containing diet without or with essential oil components. *International Journal of Poultry Science* 3:613-618.
- Li, H.-l.; Z.-j. Li; Z.-s. Wei; T. Liu; X.-z. Zou; Y. Liao, and Y. Luo. 2015. Long-term effects of oral tea polyphenols and *Lactobacillus brevis* M8 on biochemical parameters, digestive enzymes, and cytokines expression in broilers. *Journal of Zhejiang University* 16:1019-1026.
- Löest, H. B.; S. K. Noh, and S. I. Koo. 2002. Green tea extract inhibits the lymphatic absorption of cholesterol and α -tocopherol in ovariectomized rats. *The Journal of Nutrition* 132:1282-1288.
- Luna, L. G. 1968. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*.
- Manach, C.; A. Scalbert; C. Morand; C. Rémésy, and L. Jiménez. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79:727-747.
- Masteller, E. L., and C. B. Thompson. 1994. B cell development in the chicken. *Poultry Science* 73:998-1011.
- McFarlane, J. M., and S. E. Curtis. 1989. Multiple concurrent stressors in chicks. 3. Effects on plasma corticosterone and the heterophil: lymphocyte ratio. *Poultry Science* 68:522-527.
- McReynolds, J.; C. Waneck; J. Byrd; K. Genovese; S. Duke, and D. Nisbet. 2009. Efficacy of multistrain direct-fed microbial and phytogetic products in reducing necrotic enteritis in commercial broilers. *Poultry Science* 88:2075-2080.
- Mountzouris, K.; P. Tsirtsikos; G. Papadomichelakis; G. Schatzmayr, and K. Fegeros. 2015. Evaluation of the efficacy of sequential or continuous administration of probiotics and phyto-genics in broiler diets. *Animal Production Science* 55:720-728.
- Muramatsu, K.; M. Fukuyo, and Y. Hara. 1986. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 32:613-622.
- Niewold, T. 2007. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. *Poultry Science* 86:605-609.
- Noriega, M. 2000. *Apuntes de hematología aviar: material didático para curso de hematología aviária*. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de Producción Animal: Aves. México.
- Perić, L.; N. Milošević; D. Žikić; S. Bjedov; D. Cvetković; S. Markov; M. Mohnl, and T. Steiner. 2010. Effects of probiotic and phytogetic products on performance, gut morphology and cecal microflora of broiler chickens. *Archiv fur Tierzucht* 53:350-359.
- Racanicci, A. M.; J. F. Menten; S. M. Alencar; R. S. Buissa, and L. H. Skibsted. 2011. Mate (*Ilex paraguariensis*) as dietary additive for broilers: performance and oxidative stability of meat. *European Food Research and Technology* 232:655-661.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto, and R. F. Euclides. 2011. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. p.186. Universidade Federal de Viçosa-UFV, Viçosa.
- Sarker, M. S. K.; S. Y. Ko; G. M. Kim, and C. J. Yang. 2010. Effects of *Camellia sinensis* and mixed probiotics on the growth performance and body composition in broiler. *Journal of Medicinal Plants Research* 4:546-550.
- SAS Institute. 2009. *SAS Proprietary Software, Release 9.0*. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

- Singleton, V. L. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and their antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299:152-178.
- Uni, Z.; Y. Noy, and D. Sklan. 1999. Posthatch development of small intestinal function in the poult. *Poultry Science* 78:215-222.
- Windisch, W.; K. Schedle; C. Plitzner, and A. Kroismayr. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science* 86:E140-E148.
- Wong, C. P.; L. P. Nguyen; S. K. Noh; T. M. Bray; R. S. Bruno, and E. Ho. 2011. Induction of regulatory T cells by green tea polyphenol EGCG. *Immunology Letters* 139:7-13.

IV – ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NA FASE FINAL

(Normas: Journal of Poultry Science)

RESUMO - O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de aditivos fitogênicos em pó (erva-mate, chá verde, hibisco e estévia) na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho, perfil bioquímico sérico, peso dos órgãos, qualidade e oxidação lipídica da carne, na fase de 21 a 42 dias de idade. Foram utilizados 1134 frangos de corte Cobb[®] machos, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2+1 (fitogênicos x níveis + controle) totalizando 9 tratamentos, com sete repetições e 18 aves por unidade experimental. Os níveis avaliados dos fitogênicos foram de 0,5 e 1,0% de suplementação. Não houve interação ($P<0.05$) entre os aditivos e os níveis para os parâmetros avaliados, com exceção para a porcentagem de gordura abdominal. Ao aumentar o nível de suplementação do chá verde para 1,0% houve porcentagem menor de gordura abdominal ($P<0.05$) e avaliando os aditivos ao nível de suplementação de 1,0%, houve menor valor para o chá verde comparado com a estévia. A suplementação de chá verde diminuiu ($P<0.05$) o consumo de ração e o ganho de peso das aves, comparado com a erva-mate e a estévia, sem diferir do hibisco. Entretanto, não alterou a conversão alimentar. Não foi observado efeito dos aditivos fitogênicos sobre o perfil bioquímico sérico, peso relativo dos órgãos e comprimento do intestino. Contudo, foi observado maior CRA com a suplementação de erva-mate e chá verde, e maior valor com a suplementação dos aditivos ao nível de 1,0%. A suplementação de 1,0% de erva-mate e chá verde diminuiu os valores de malonaldeído em relação ao tratamento controle. A suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco nas dietas de frangos de corte durante a fase final, pode diminuir o consumo de ração e ganho de peso, sem alterar a conversão alimentar. A suplementação de erva-mate, chá verde melhoram a qualidade da carne, aumentando a capacidade de retenção de água da carne do peito, além disso, a suplementação de erva-mate e chá verde, ao nível de 1,0% ou 10 g/kg de dieta, retarda a oxidação lipídica da carne do peito até 21 dias.

Palavras-chave: antioxidante natural, desempenho, perfil bioquímico sérico, qualidade de carne

V - PHYTOGENIC ADDITIVES IN BROILERS FEEDS IN THE FINAL PHASE

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the use of powder phytochemicals (yerba-mate, green tea, hibiscus and stevia) in broilers feeding on the growth performance, serum biochemical profile, organ weight, meat quality and lipid oxidation in the phase of 21 to 42 days of age. 1134 male Cobb[®] broiler chickens were distributed in a completely randomized design in a factorial scheme 4x2+1 (phytochemical x levels + control), totaling 9 treatments, with seven replicates and 18 birds per experimental unit. The evaluated phytochemical levels were 0.5 and 1.0% of supplementation. There was no interaction ($P < 0.05$) between the additives and phytochemical levels, for the parameters evaluated, except for abdominal fat percentage. Increasing the green tea level supplementation to 1.0% resulted in a lower abdominal fat percentage ($P < 0.05$) and the additive at the 1.0% supplementation level was evaluated, there was a lower value for green tea compared to stevia. Green tea supplementation decreased ($P < 0.05$) feed intake and weight gain of the birds compared to yerba mate and stevia, without differing from hibiscus. However, no difference was observed for feed conversion. No effect of the phytochemical additives was observed on the serum biochemical profile, relative gastrointestinal tract organs weight and intestine length. However, higher CRA was observed with green tea and hibiscus supplementation, and higher value with the additives supplementation at the 1.0% level. For malonaldehyde values, the yerba mate and green tea supplementation at the 1.0% level decreased the values in relation to control treatment. In conclusion, the 1.0% of yerba mate, green tea and hibiscus supplementation in diets of broiler chickens during the final phase can reduce feed intake and weight gain without altering feed conversion. Yerba mate and green tea supplementation improves meat quality, increasing the water retention capacity of breast meat, in addition, the supplementation of yerba mate and green tea, at the level of 1,0% or 10 g/kg diet, slows the lipid oxidation of the meat of the breast up to 21 days.

Key words: natural antimicrobial, meat quality, performance, serum biochemical profile

INTRODUÇÃO

Entre as estratégias alternativas de alimentação para o uso de antibióticos como antimicrobianos melhoradores de crescimento, devido às exigências da União Europeia (Hashemi and Davoodi, 2010), os fitogênicos estão sendo pesquisados pelas suas propriedades benéficas que podem melhorar a saúde animal (Malik, 2016).

O termo fitogênico refere-se à utilização de plantas ou ervas, na forma em pó ou de extrato, tais como óleos essenciais e seus componentes bioativos (Hippenstiel et al., 2011; Windisch et al., 2008) que podem ser utilizados nas dietas de frangos de corte (Koiyama et al., 2014), podendo manter os mesmos índices zootécnicos que os antibióticos promotores de crescimento, melhorando sua eficiência alimentar, através de suas propriedades antibacterianas que beneficia a saúde intestinal das aves (Sarker et al., 2010). Além disso, os fitogênicos têm propriedade antioxidante (Racanicci et al., 2011), efeito benéfico que pode retardar a oxidação dos lipídios da carne de frangos de corte (Paraskeuas et al., 2017),

Considerando que a carne de frango é amplamente consumida, é de grande importância manter a qualidade da carne em relação a oxidação lipídica, pelo alto teor de ácidos graxos poli-insaturados, aumentando a busca por aditivos naturais que podem melhorar o estado antioxidante das aves e da carne (Racanicci et al., 2011). Dessa forma, o uso de aditivos com propriedades antioxidantes poderia melhorar ou minimizar a oxidação lipídica nas aves, e pode aumentar o tempo de armazenamento das carnes.

Neste sentido, pode-se destacar a erva-mate (*Ilex paraguariensis*), chá verde (*Camellia sinensis*), hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) e a estévia (*Stevia rebaudiana*), por apresentarem elevados níveis de compostos bioativos que participam do metabolismo secundário das plantas (Windisch et al., 2008), que possuem propriedades que ao serem incorporados nas dietas animais, tem como objetivo de melhorar os índices zootécnicos, pelo fato de melhorar a saúde animal, diminuindo agentes patogênicos no sistema digestivo pela ação antimicrobiana (Farahat et al., 2016), além de atuar como antioxidante diminuindo estresse oxidativo e oxidação lipídica dos produtos (Khan, 2014). Estes resultados refletem em aumento do ganho de peso, melhor eficiência alimentar e melhor qualidade dos produtos finais (Koiyama, 2012).

Tendo em vista os efeitos positivos dos fitogênicos ou seus compostos bioativos para o desempenho animal e na qualidade da carne, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de fitogênicos em pó nas dietas de frangos de corte durante a

fase final, sobre o desempenho, perfil bioquímico sérico, peso de órgãos, qualidade e oxidação lipídica da carne.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UEM (Registro Nº 7413140917).

Foram utilizados 1134 frangos de corte machos, da linhagem comercial Cobb®, de 21 a 42 dias de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2+1 (aditivos fitogênicos (erva-mate, chá verde, hibisco e estévia) x níveis de suplementação (0,5 e 1,0%) + dieta controle) totalizando 9 tratamentos, com sete repetições e 18 aves por unidade experimental, no período de 21 a 42 dias de idade.

As aves foram alojadas em galpão climatizado, com sistema de ventilação de pressão negativa e placa evaporativa, subdivididos em boxes de 1,0 x 2,0 metros, cobertos com cama de casca de arroz reutilizada uma vez. Foram utilizados bebedouros do tipo *nipple* e comedouros tubulares, com fornecimento de ração e água *ad libitum*. O programa de luz foi de 23 horas de luz por dia.

As dietas experimentais foram à base de milho e farelo de soja, suplementadas com aminoácidos sintéticos para suprir às exigências das aves (Tabela 1), utilizando os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos, de desempenho regular-médio, conforme Rostagno et al. (2017).

Os aditivos fitogênicos foram adicionados na forma em pó. A erva-mate (*Ilex Paraguariensis*) utilizada foi de um produto comercial (Erva Mate 81®, Guarapuava, PR, Brasil) peneirada para obter somente as folhas. As folhas de chá verde (*Camellia Sinensis*) foram obtidas da empresa “Chás Campo Verde®”, localizada em Curitiba, Paraná, Brasil. O hibisco (*Hibiscus sabdariffa L.*) utilizado proveniente do cálice do fruto seco, obtida pela “Unilife®”, localizada em Maringá, Paraná. O subproduto da estévia (*Stevia rebaudiana*), foi obtido do processamento da extração industrial dos edulcorantes das folhas da planta (Ingá Stevia Industrial S/A, Maringá, Paraná, Brasil).

Tabela 1. Composição porcentual e calculada da dieta controle para frangos de corte de desempenho regular-médio de 21 a 42 dias de idade.

Ingredientes	Quantidade (kg)
Milho	62,90
Farelo de soja 45%	29,49
Óleo de soja	3,00
Fosfato bicálcico	1,31
Calcário calcítico	0,76
Sal comum	0,48
Supl. mineral e vitamínico ¹	0,40
Inerte (Caulim) ²	1,20
DL-Metionina 99%	0,25
L-Lisina HCl 78,5%	0,17
L-Treonina 98%	0,04
Composição calculada	
Proteína Bruta (%)	19,58
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3.175
Cálcio (%)	0,70
Fosforo Disponível (%)	0,34
Lisina Digestível (%)	1,07
Metionina+Cistina Digestível (%)	0,79
Treonina Digestível (%)	0,71
Sódio (%)	0,20
Cloro (%)	0,18
Potássio (%)	0,60

¹Suplemento vitamínico e mineral para fase de crescimento (Conteúdo por kg de ração): Vit. A (acetato de retinol), 9000,00 UI/kg; Vit. D3 (colecalciferol), 1800,00 UI/kg; Vit. E (acetato de dl- α -tocoferol), 28,00 UI/kg; Vit. B1 (tiamina), 1,20 mg/kg; Vit. B2 (riboflavina), 4,00 mg/kg; B6 (piridoxina), 1,80 mg/kg; Vit. B12 (cianocobalamina), 12,00 mcg/kg; Vit. K3 (menadiona dimetilpirimidinol), 1,67 mg/kg; Pantotenato de cálcio 10,00 mg/kg; Niacina, 28,00 mg/kg; Ácido fólico, 0,56 mg/kg; Biotina, 0,06 mg/kg; Colina, 220,00 mg/kg; BHT (hidroxitolueno butilado), 4,00 mg/kg; Zinco, 56,00 mg/kg; Ferro 48,00 mg/kg; Manganês, 60,00 mg/kg; Cobre, 10,80 mg/kg; Iodo, 1,00 mg/kg; Cobalto, 0,20 mg/kg; Selênio, 0,29 mg/kg.

²Inerte (Caulim) – A adição dos fitogênicos foi em substituição ao inerte.

Compostos fenólicos e flavonoides totais dos fitogênicos

Para determinação do teor de compostos fenólicos totais dos fitogênicos (Tabela 2), foram obtidos extratos hidroalcoólicos, realizados em triplicatas, segundo a metodologia de Bloor (2001). Uma amostra de 0,5 gramas foi misturada com 20 mililitros de metanol: água (60:40 v/v) em agitação a 1800 rpm, em temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 1.000 rpm por 10 minutos. Uma alíquota de 100 μ L foi transferida para tubos de ensaio devidamente protegidos da luz, e adicionado 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 0,5 mL de carbonato de sódio (7,5%), seguindo-se de agitação em vortex. Após 30 minutos em repouso, a absorbância foi mensurada em 765 nm em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific®, Evolution 300, Pittsburgh

EUA) (Singleton et al., 1999). Através da equação da curva de calibração e com os valores das absorvâncias das amostras, realizou-se o cálculo do teor de compostos fenólicos totais, expresso em mg de ácido gálico/100 g de amostra.

Tabela 2. Concentração de compostos fenólicos e flavonoides aditivos fitogênicos (mg eq. AG/100g de amostra).

Aditivos	Polifenóis	Flavonoides
Erva-mate	476,11	163,30
Chá verde	426,07	201,02
Hibisco	321,15	139,80
Estévia	125,72	14,74

Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal - UEM.

mg eq. AG= miligramas equivalentes de ácido gálico.

Desempenho produtivo

Para a determinação das características de desempenho produtivo das aves, as aves e as sobras de rações foram pesadas semanalmente, de 21 a 42 dias de idade, sendo posteriormente, calculados os valores de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Em caso de mortalidade das aves, a ração e a ave morta foram pesadas para correção do consumo de ração.

Perfil bioquímico sérico

Aos 42 dias de idade, foram colhidas amostras de sangue, sem jejum, através da veia jugular, de duas aves por unidade experimental. Uma amostra foi colhida com anticoagulante (EDTA) para obtenção do plasma sanguínea e outra amostra, sem anticoagulante, para obtenção do soro. As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos, posteriormente os sobrenadantes foram transferidos para tubos de polietileno e armazenadas em freezer até a realização das análises. Foram determinadas as concentrações de colesterol total, triglicerídeos e glicose com a utilização de kits comerciais (Gold Analisa Ltda, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Peso relativo dos órgãos

Aos 42 dias de idade, uma ave por unidade experimental, com peso representativo (média \pm 5%), foi submetida a eutanásia com o uso de tiopental (20mg/kg), seguida de deslocamento cervical e sangria, após constada a anestesia, para determinação do peso relativo dos órgãos do trato gastrointestinal (intestino delgado, fígado e pâncreas). Os órgãos foram pesados em balança de precisão (0,001g) e calculado o peso relativo dos

órgãos, em relação ao peso vivo da ave, por meio da fórmula: (peso do órgão/peso vivo) x 100.

Qualidade da carne

Das mesmas aves sacrificadas para a colheita dos órgãos, aos 42 dias de idade, foram colhidas amostras do peito (*pectoralis major*) e a coxa esquerda de uma ave por unidade experimental, para avaliação dos parâmetros de pH e capacidade de retenção de água da carne do peito (CRA). O pH foi aferido 15 minutos *post-mortem*, com auxílio de um potenciômetro de contato da marca Testo® (modelo 205), introduzido diretamente no filé do peito e na coxa esquerda, conforme descrito por Boulianne and King (1995) e adaptado por Olivo et al. (2001). A CRA foi realizada utilizando o método de centrifugação proposto por Nakamura and Katoh (1981). Amostras de 1g de músculo do peito cru foram embrulhadas em papel filtro, centrifugadas a 1.500 rpm durante quatro minutos, pesadas em balança analítica (0,001g) e secas em estufa a 70°C por 12 horas. O valor de CRA foi determinado pela diferença entre o peso da amostra após centrifugação e o peso da amostra seca, dividida pelo peso final, sendo o valor expresso em porcentagem.

Oxidação lipídica da carne

Das mesmas aves sacrificadas para colheita de órgãos, foram colhidas a coxa esquerda (a mesma utilizada para aferir o pH) e a direita de 6 aves por tratamento, que foram embaladas em papel alumínio e armazenadas em freezer a -18°C. Foram analisadas sob um esquema fatorial 4 x 2 x 4 + 1 (aditivos x níveis x períodos + controle), sendo os períodos de: 0, 21, 42 e 63 dias, avaliados pela metodologia de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) de acordo com Sørensen and Jørgensen (1996). Foram utilizadas 3 amostras por tratamento em cada período de avaliação, utilizando em média 100 gramas de carne, e foram trituradas em multiprocessador de alimentos, posteriormente pesadas 5 g por amostra, colocadas em tubo falcon e adicionado 15 ml de solução de TCA (ácido tricloroacético 7,5%), ácido gálico (0,1%) e EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético 0,1%), homogeneizados no turax por 30 segundos a 15.000 rpm. Após este procedimento, o homogeneizado foi filtrado em papel de filtro qualitativo (12,5 mm) e 1,5 mL da solução filtrada foi misturada com 1,5 mL de TBA (ácido tiobarbitúrico) em tubo de ensaio e aquecidos em banho-maria a 100°C por 40 minutos. Os tubos foram resfriados em água com temperatura ambiente e posteriormente centrifugados a 3.000 rpm durante 10 minutos. Posteriormente, as amostras foram lidas

em espectrofotômetro com absorvância de 545 nm. Para os cálculos, foi utilizada uma curva padrão de malonaldeído (MDA) e os dados foram expressos como em mg de MDA/kg de amostra.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com auxílio do procedimento General Linear Model (GLM) do programa estatístico SAS (SAS 9.0 Institute, 2009) ao nível de significância de 5%. As médias entre as variáveis independentes e interação foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para comparação dos aditivos fitogênicos com o tratamento controle, realizou-se o teste de Dunnett ($P < 0.05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as características de desempenho (Tabela 3), não houve interação ($P > 0,05$) entre aditivos e níveis de suplementação dos fitogênicos. Ao se avaliar o efeito dos aditivos, pode-se observar que a adição de chá verde diminuiu ($P < 0.05$) o consumo de ração e o ganho de peso das aves, quando comparado com a erva-mate e a estévia, não diferindo do hibisco. A suplementação das dietas ao nível de 1,0% dos aditivos, apresentou menor consumo de ração ($P < 0.05$) das aves. Entretanto, os aditivos fitogênicos e os níveis de suplementação avaliados não alteraram ($P > 0.05$) a conversão alimentar das aves.

Quando comparado os aditivos fitogênicos com o tratamento controle, houve menor consumo de ração ($P < 0.05$) para as aves que receberam suplementação de chá verde e hibisco nos dois níveis utilizados (0,5 e 1,0%) e para a erva-mate apenas no nível de 1,0% de suplementação. Este menor consumo de ração, refletiu em menor ganho de peso das aves ($P < 0,05\%$) com a adição de chá verde (0,5 e 1,0%) e hibisco (1,0%), quando comparados com a dieta controle. Apesar de não influenciar ($P > 0.05$) a conversão alimentar das aves que receberam as dietas contendo aditivos fitogênicos em relação ao tratamento controle.

Estudos com ratos, apresentaram diminuição no consumo de ração, suplementados com chá verde, pela presença da cafeína que pode estimular a termogênese e a oxidação da gordura através da inibição da fosfodiesterase, uma enzima que degrada o AMPc (adenosina monofosfato cíclico) intracelular (Diepvens et al., 2007), maximizando a atividade da lipase do adipócito e com isso, aumentar a lipólise (Langfort et al., 1999). Esta degradação dos lipídeos aumenta a concentração da leptina, hormônio produzido em

maior parte nos sítios do tecido adiposo branco, na corrente sanguínea que se liga a receptores específicos no hipotálamo, levando um sinal de saciedade (Rayner and Trayhurn, 2001). Entretanto, este efeito para o consumo de ração não foi observado com a suplementação da estévia, provavelmente pelo fato da não absorção do esteviosídeo e esteviol no intestino (Geuns et al., 2003). Quando adicionado 667 mg de esteviosídeo/kg de ração não encontrou diferença para o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar de frangos de corte (Geuns et al., 2003).

Tabela 3. Desempenho (média \pm desvio padrão) de frangos de corte suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas durante a fase de 21 a 42 dias de idade.

Aditivos	Níveis (%)	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar (g/g)	Consumo polifenóis (mg)	Consumo flavonoides (mg)
Controle		3807.1 \pm 35.01	2118.9 \pm 23.5	1.797 \pm 0.026		
Erva-mate	0,5	3747.5 \pm 26.7	2097.7 \pm 31.3	1.787 \pm 0.029	89,17	30,59
	1,0	3704.5 \pm 39.8*	2077.5 \pm 23.9	1.783 \pm 0.024	88,15	30,18
Chá verde	0,5	3696.6 \pm 51.8*	2061.3 \pm 28.0*	1.793 \pm 0.022	78,73	37,14
	1,0	3637.7 \pm 30.0*	2043.9 \pm 11.9*	1.780 \pm 0.018	77,46	36,55
Hibisco	0,5	3707.3 \pm 44.1*	2076.6 \pm 26.4	1.785 \pm 0.006	59,49	25,91
	1,0	3673.3 \pm 33.4*	2056.6 \pm 29.5*	1.786 \pm 0.021	58,95	25,67
Estévia	0,5	3731.2 \pm 18.7	2083.4 \pm 18.3	1.791 \pm 0.010	23,44	2,74
	1,0	3734.2 \pm 43.3	2091.6 \pm 20.2	1.785 \pm 0.008	23,47	2,75
CV (%)		2.98	2.65	1.68		
Aditivos						
Erva-mate		3726,03 a	2087,62 a	1,785		
Chá verde		3667,21 b	2052,64 b	1,787		
Hibisco		3690,35 ab	2066,64 ab	1,786		
Estévia		3732,75 a	2087,53 a	1,788		
Níveis						
0,5%		3720,68 a	2079,77	1,789		
1,0%		3687,49 b	2067,44	1,784		
P-Valor						
Aditivos		0.003	0.015	0.986		
Níveis		0.014	0.154	0.413		
Aditivos x níveis		0.401	0.606	0.878		

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Diferem da dieta controle pelo teste de Dunnett (P<0,05).

CV= Coeficiente de variação.

Para o perfil bioquímico sérico das aves (Tabela 4), não houve interação nem efeito isolado (P>0,05) entre os aditivos fitogênicos e os níveis de suplementação avaliados, sobre o colesterol total, triglicerídeos e glicose aos 42 dias de idade. Os aditivos fitogênicos, têm capacidade de diminuir o colesterol sérico, pelo efeito dos compostos

fenólicos sobre metabolismo lipídico, ou seja, estes inibem a absorção do colesterol por interferir na emulsificação dos lipídeos da dieta, dificultando a digestão e absorção de lipídeos (Gomikawa et al., 2008), consequentemente diminui lipoproteínas e triglicerídeos no sistema circulatório (Löest et al., 2002).

Tabela 4. Perfil bioquímico sérico (mg/dL) (média \pm desvio padrão) de frangos de corte, aos 42 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Níveis (%)	Colesterol total	Triglicerídeos	Glicose
Controle		96.5 \pm 9.5	83.7 \pm 8.1	251.0 \pm 25.7
Erva-mate	0,5	93.5 \pm 18.1	81.2 \pm 12.6	245.0 \pm 22.7
	1,0	84.7 \pm 32.7	70.8 \pm 19.8	242.5 \pm 22.3
Chá verde	0,5	96.3 \pm 20.6	76.7 \pm 22.4	240.1 \pm 16.6
	1,0	86.2 \pm 23.5	74.1 \pm 15.6	238.9 \pm 20.1
Hibisco	0,5	93.4 \pm 14.6	79.1 \pm 14.4	244.0 \pm 25.1
	1,0	87.4 \pm 11.1	76.8 \pm 18.6	240.3 \pm 11.5
Estévia	0,5	93.8 \pm 15.5	80.5 \pm 17.8	241.7 \pm 26.4
	1,0	96.4 \pm 10.6	81.9 \pm 9.3	248.4 \pm 22.7
CV (%)		19.01	20.27	8.37
Aditivos				
Erva-mate		89,1	76,0	243,7
Chá verde		91,2	70,4	237,5
Hibisco		90,4	77,9	242,2
Estévia		95,1	81,2	245,0
Níveis				
	0,5%	94,2	79,4	242,7
	1,0%	88,7	73,4	241,5
<i>P-Valor</i>				
	Aditivos	0.914	0.871	0.536
	Níveis	0.374	0.864	0.263
	Aditivos x níveis	0.887	0.924	0.755

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Diferem da dieta controle pelo teste de Dunnett (P<0,05).

CV= Coeficiente de variação.

Houve interação (P<0.05) entre os aditivos e os níveis de suplementação para a porcentagem de gordura abdominal. No entanto não houve efeito sobre o peso relativo dos órgãos e comprimento do intestino delgado (Tabela 5).

Tabela 5. Peso relativo dos órgãos, gordura abdominal e comprimento do intestino delgado (média \pm desvio padrão) de frangos de corte, aos 42 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Níveis (%)	Fígado (%)	Pâncreas (%)	Intestino (%)	Intestino (cm)	Gordura abdom.(%)
Controle		1.83 \pm 0.18	0.22 \pm 0.02	2.90 \pm 0.16	218.8 \pm 14.8	1.81 \pm 0.13
Erva-mate	0,5	1.88 \pm 0.16	0.20 \pm 0.04	2.91 \pm 0.14	226.2 \pm 21.9	1.56 \pm 0.03
	1,0	2.04 \pm 0.15	0.19 \pm 0.01	3.05 \pm 0.21	229.6 \pm 9.50	1.28 \pm 0.12*
Chá verde	0,5	1.91 \pm 0.17	0.20 \pm 0.03	3.01 \pm 0.35	224.0 \pm 17.8	1.49 \pm 0.14*
	1,0	2.00 \pm 0.20	0.19 \pm 0.02	3.02 \pm 0.36	224.4 \pm 15.2	1.11 \pm 0.09*
Hibisco	0,5	1.95 \pm 0.06	0.21 \pm 0.02	2.89 \pm 0.16	218.0 \pm 10.3	1.43 \pm 0.12*
	1,0	1.88 \pm 0.29	0.19 \pm 0.03	2.95 \pm 0.25	220.0 \pm 11.1	1.37 \pm 0.15*
Estévia	0,5	1.90 \pm 0.11	0.23 \pm 0.03	2.98 \pm 0.29	216.2 \pm 19.3	1.53 \pm 0.27
	1,0	1.92 \pm 0.07	0.22 \pm 0.02	2.96 \pm 0.24	217.5 \pm 17.9	1.60 \pm 0.08
CV (%)		8.88	14.05	7.87	6.73	16.21
Aditivos						
Erva-mate		1,96	0,20	2,98	227,9	1,42 ab
Chá verde		1,95	0,19	3,02	224,2	1,30 b
Hibisco		1,91	0,20	2,92	219,0	1,40 ab
Estévia		1,91	0,22	2,97	216,9	1,56 a
Níveis						
0,5%		1,91	0,21	2,95	221,1	1,50 a
1,0%		1,96	0,20	3,00	222,8	1,34 b
<i>P-Valor</i>						
Aditivos		0.865	0.051	0.841	0.422	0.007
Níveis		0.332	0.172	0.537	0.724	0.004
Aditivos x níveis		0.487	0.837	0.900	0.997	0.010

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Diferem da dieta controle pelo teste de Dunnett (P<0,05).

CV= Coeficiente de variação.

Desdobrando a interação para a porcentagem de gordura abdominal (Tabela 6), ao aumentar o nível de suplementação do chá verde para 1,0% houve menor quantidade de gordura abdominal (P<0.05) e dentro do nível de 1,0%, apenas foi maior a deposição para a estévia. Esta menor deposição de gordura das aves suplementadas com chá verde em relação à estévia, pode ser pela quantidade dos polifenóis presentes, principalmente os flavonoides, sendo 201,02 e 14,7 mg eq. AG/100g de amostra, respectivamente. Pode ser elucidado por alguns mecanismos fisiológicos, em que ratos receberam chá verde em substituição à água durante 3 semanas, observou-se que reduziu o peso do tecido adiposo sem alterar o peso corporal e ingestão de alimentos e água. O chá verde reduziu a absorção de glicose, acompanhado da diminuição da translocação do transportador de glicose 4 (GLUT4) no tecido adiposo, enquanto estimulou a absorção de glicose com translocação

GLUT4 no músculo esquelético, reduzindo a entrada de glicose nas células adiposas, além de bloquear a ativação de fatores da adipogênese (Ashida et al., 2004). A expressão de principais genes, carnitina palmitoil transferase I, acil-coA oxidase 1, relacionados à síntese lipídica pode diminuir, além de causar aumento da β -oxidação (Huang et al., 2013), o que confirma esta menor deposição de gordura das aves suplementadas com chá verde.

A redução da gordura abdominal pode ser causada pelo efeito supressivo dos fitogênicos sobre o consumo de ração, o que, por sua vez, reduz a lipogênese hepática e o acúmulo de gordura no tecido adiposo. Este resultado condiz com os estudos no uso de chá verde (0,5; 0,75; 1,0 e 1,5%) para frangos de corte que causou diminuição no consumo de ração e menor acúmulo de gordura subcutânea (Biswas and Wakita, 2001). A adição de chá verde, contendo 12,42% de polifenóis e 5,76% de cafeína, diminuíram a gordura abdominal (Wu et al., 2014), podendo ser em parte pelo efeito estimulante da cafeína presente nos fitogênicos atuando sobre a lipólise no tecido adiposo. Por outro lado, o uso das folhas de estevia na alimentação de frangos de corte pode aumentar a gordura subcutânea, e sugere que a lipogênese e o armazenamento de gordura foram aumentados pelos baixos níveis séricos encontrados de T3 nas aves (Atteh et al., 2008), sendo que o hipotireoidismo está associado à adiposidade em frangos de corte (Decuyper et al., 1987).

Tabela 6. Desdobramento da interação entre aditivos e níveis de suplementação dos fitogênicos nas dietas, para a porcentagem de gordura abdominal de frangos de corte com 42 dias de idade.

Níveis (%)	Erva-mate	Chá verde	Hibisco	Estévia	<i>P</i> -valor interação	CV (%)
0.5	1.56 aA	1.49 aA	1.43 aA	1.53 Aa	0.010	16.21
1.0	1.28 aAB	1.11 bB	1.37 aAB	1.60 Aa		

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

CV= Coeficiente de variação.

Para os parâmetros de qualidade da carne (Tabela 7), não houve interação ($P < 0,05$) entre aditivos e níveis de suplementação avaliados, para o pH do peito e da coxa (15 min *post-mortem*) e para a capacidade de retenção de água (CRA), nas amostras da carne do peito das aves aos 42 dias de idade. Entretanto, houve efeito isolado dos aditivos e níveis de suplementação para a CRA, observando maior porcentagem de CRA para a carne de peito das aves que foram suplementadas com erva-mate e chá verde quando comparados

com o hibisco e a estévia. Os tratamentos suplementados com 1,0% dos fitogênicos nas dietas, apresentaram maior CRA. Quando comparado os tratamentos com aditivos fitogênicos em relação ao tratamento controle, houve CRA maior ($P < 0.05$) para os tratamentos suplementados com erva-mate, chá verde e hibisco nas dietas, independentemente dos níveis de inclusão avaliados.

Tabela 7. Características de qualidade da carne, pH e capacidade de retenção de água (CRA), (média \pm desvio padrão) em frangos de corte com 42 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Níveis (%)	pH do peito	pH da coxa	CRA %
Controle		6.34 \pm 0.16	6.13 \pm 0.12	72.40 \pm 1.14
Erva-mate	0,5	6.36 \pm 0.08	6.12 \pm 0.07	77.50 \pm 1.91*
	1,0	6.37 \pm 0.16	6.14 \pm 0.18	81.25 \pm 3.20*
Chá verde	0,5	6.36 \pm 0.17	6.13 \pm 0.18	77.67 \pm 1.53*
	1,0	6.38 \pm 0.12	6.15 \pm 0.11	80.70 \pm 2.00*
Hibisco	0,5	6.36 \pm 0.11	6.12 \pm 0.07	76.00 \pm 1.58*
	1,0	6.36 \pm 0.17	6.15 \pm 0.10	77.25 \pm 1.25*
Estévia	0,5	6.36 \pm 0.14	6.13 \pm 0.11	74.60 \pm 1.14
	1,0	6.36 \pm 0.13	6.12 \pm 0.15	75.20 \pm 1.79
CV (%)		2.21	2.13	3.85
Aditivos				
Erva-mate		6,37	6,13	79,38 a
Chá verde		6,37	6,14	79,19 a
Hibisco		6,36	6,13	76,63 b
Estévia		6,36	6,13	74,90 b
Níveis				
0,5%		6,36	6,13	76,29 b
1,0%		6,37	6,15	78,60 a
P-Valor				
Aditivos		0.951	0.502	0.002
Níveis		0.552	0.681	0.012
Aditivos x níveis		0.267	0.225	0.617

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

*Diferem da dieta controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

CV= Coeficiente de variação.

A CRA está relacionada com a estabilidade de armazenamento, pelo fato da atividade antioxidante dos fitogênicos, e podem diminuir a oxidação dos lipídeos, melhorando a integridade da membrana celular e, conseqüentemente, melhorar a capacidade de retenção de água da carne (Tang et al., 2000; Zhong et al., 2009), ainda diminui a perda por gotejamento do músculo do peito (Wu et al., 2014), considerando que os tecidos musculares que apresentam baixa capacidade de retenção de água, podem levar

a perda de peso durante o armazenamento. Além disso, quando ocorre o extravasamento de água, perde a qualidade da carne e valores nutricionais são afetados negativamente.

Para a oxidação lipídica da carne de coxas, avaliados pelo método de TBARS, aos 42 dias de idade, não houve interação ($P > 0.05$) dos aditivos fitogênicos e dos níveis de suplementação avaliados. Porém, ao avaliar o período de armazenamento da carne, houve aumento gradativo ($P < 0,05$) dos valores de malonaldeído (MDA) à medida que foi aumentando o tempo de armazenamento (Tabela 8).

Quando comparado às médias dos tratamentos contendo suplementação de aditivos fitogênicos em relação ao tratamento controle, houve menores valores de MDA com a suplementação de erva-mate e chá verde ao nível de 1,0%, nos períodos de 0 e 21 dias. A menor oxidação lipídica da carne da coxa pode ser devido a ação dos polifenóis presentes na erva-mate e no chá verde, 476,11 e 426,07mg eq. AG/100g de amostra, respectivamente. Este resultado mostra que os polifenóis presentes nestas ervas, ao serem absorvidos foram capazes de reagirem com os radicais livres presentes nas células e retardar o processo de autooxidação dos lipídios.

Antioxidantes naturais (tocoferol, alecrim, chá verde, semente de uva e extratos de tomate) nas dietas de frangos de corte, promovem maior proteção dos tecidos musculares, pois são absorvidos e depositados nas membranas celulares dos tecidos, interagindo com outros antioxidantes, como a vitamina E, assim preservando os lipídios das membranas (Smet et al., 2008). A suplementação de chá verde ao nível de 0.5% nas dietas de frangos de corte, retardou a oxidação lipídica da carne da coxa, sendo observado menores valores de MDA, em relação ao grupo que não recebeu suplementação, no dia zero (carne fresca) e com uma semana de armazenamento em freezer (Sarker et al., 2010). Racanicci et al. (2011) avaliaram extratos de erva-mate na água de bebida (0,1; 0,5 e 1,0% de suplementação) de frangos de corte, concluíram que os compostos fenólicos da erva-mate foram absorvidos e se acumularam nas membranas celulares dos tecidos musculares e interagiram sinergicamente com o tocoferol presente nas membranas, regenerando esta vitamina e aumentando o tempo de prateleira do produto cárneo cozido.

Tabela 8. Valores de malonaldeído (mg/kg) da carne da coxa de frangos de corte com 42 dias de idade, suplementados com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Níveis (%)	Períodos de armazenamento (dias)				Média tratamentos
		0	21	42	63	
Controle		4.198	5.048	6.126	7.351	5.681
Erva-mate	0.5	3.515	4.646	5.871	7.152	5.296
	1.0	3.152*	4.192*	5.767	7.034	5.036
Chá verde	0.5	3.606	4.676	5.858	7.189	5.332
	1.0	3.190*	4.243*	5.659	7.081	5.043
Hibisco	0.5	3.874	4.842	5.901	7.208	5.456
	1.0	3.744	4.418	5.856	7.112	5.282
Estévia	0.5	3.917	4.896	5.986	7.276	5.519
	1.0	3.909	4.847	5.952	7.252	5.490
Média períodos		3.678 d	4.645 c	5.886 b	7.184 a	
CV (%)		9.78	8.24	14.31	11.02	
Aditivos						
Erva-mate			5.166			
Chá verde			5.188			
Hibisco			5.369			
Estévia			5.504			
Níveis						
0,5%			5.401			
1,0%			5.213			
<i>P-Valor</i>						
Aditivos			0.092			
Níveis			0.213			
Períodos			0.001			
Aditivos x Níveis			0.954			
Aditivos x Períodos			0.911			
Aditivos x Níveis x Períodos			1.012			

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferenciam entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Diferem da dieta controle pelo teste de Dunnett (P<0,05).

CV= Coeficiente de variação.

CONCLUSÃO

A adição de erva-mate, chá verde e hibisco na alimentação de frangos de corte durante a fase final, pode diminuir o consumo de ração e ganho de peso, sem alterar a conversão alimentar. A suplementação de erva-mate e chá verde melhoram a qualidade da carne, aumentando a capacidade de retenção de água da carne do peito, além disso, a suplementação de erva-mate e chá verde, ao nível de 1,0% ou 10 g/kg de dieta, retarda a oxidação lipídica da carne do peito até 21 dias.

REFERÊNCIAS

- Ashida, H.; T. Furuyashiki; H. Nagayasu; H. Bessho; H. Sakakibara; T. Hashimoto, and K. Kanazawa. 2004. Anti-obesity actions of green tea: possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors. *Biofactors* 22:135-140.
- Atteh, J.; O. Onagbesan; K. Tona; E. Decuypere; J. Geuns, and J. Buyse. 2008. Evaluation of supplementary stevia (*Stevia rebaudiana, bertonii*) leaves and stevioside in broiler diets: effects on feed intake, nutrient metabolism, blood parameters and growth performance. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 92:640-649.
- Biswas, A. H., and M. Wakita. 2001. Effect of dietary Japanese green tea powder supplementation on feed utilization and carcass profiles in broilers. *The Journal of Poultry Science* 38:50-57.
- Bloor, S. J. 2001. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Methods in Enzymology* 335:3-14.
- Boulianne, M., and A. King. 1995. Biochemical and color characteristics of skinless boneless pale chicken breast. *Poultry Science* 74:1693-1698.
- Decuypere, E.; J. Buyse; C. Scanes; L. Huybrechts, and E. Kühn. 1987. Effects of hyper- or hypothyroid status on growth, adiposity and levels of growth hormone, somatomedin C and thyroid metabolism in broiler chickens. *Reproduction Nutrition Développement* 27:555-564.
- Diepvens, K.; K. R. Westerterp, and M. S. Westerterp-Plantenga. 2007. Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *American journal of physiology-Regulatory, integrative and comparative physiology* 292:R77-R85.
- Dulloo, A.; J. Seydoux; L. Girardier; P. Chantre, and J. Vandermander. 2000. Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity. *International Journal of Obesity* 24:252.
- Farahat, M.; F. Abdallah; T. Abdel-Hamid, and A. Hernandez-Santana. 2016. Effect of supplementing broiler chicken diets with green tea extract on the growth performance, lipid profile, antioxidant status and immune response. *British Poultry Science* 57:714-722.
- Geuns, J. M.; R. D. Malheiros; V. M. Moraes; E. M. P. Decuypere; F. Compennolle, and J. G. Buyse. 2003. Metabolism of stevioside by chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:1095-1101.
- Gomikawa, S.; Y. Ishikawa; W. Hayase; Y. Haratake; N. Hirano; H. Matuura; A. Mizowaki; A. Murakami, and M. Yamamoto. 2008. Effect of ground green tea drinking for 2 weeks on the susceptibility of plasma and LDL to the oxidation ex vivo in healthy volunteers. *Kobe Journal of Medical Sciences* 54:62-72.
- Hippenstiel, F.; A. Abdel-Wareth; S. Kehraus, and K. Südekum. 2011. Effects of selected herbs and essential oils, and their active components on feed intake and performance of broilers—a review. *Archiv für Geflügelkunde* 75:226-234.
- Huang, J.; Y. Zhang; Y. Zhou; Z. Zhang; Z. Xie; J. Zhang, and X. Wan. 2013. Green tea polyphenols alleviate obesity in broiler chickens through the regulation of lipid-metabolism-related genes and transcription factor expression. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:8565-8572.
- Khan, S. H. 2014. The use of green tea (*Camellia sinensis*) as a phyto-genic substance in poultry diets. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 81:01-08.
- Koizumi, N. T. G.; A. P. Rosa; M. T. S. Padilha; L. S. Boemo; A. Scher; A. M. da Silva Melo, and M. de Oliveira Fernandes. 2014. Desempenho e rendimento de carcaça de

- frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 49:225-231.
- Langfort, J.; T. Ploug; J. Ihlemann; M. Saldo; H. Cecilia, and H. Galbo. 1999. Expression of hormone-sensitive lipase and its regulation by adrenaline in skeletal muscle. *Biochemical Journal* 340:459-465.
- Löest, H. B.; S. K. Noh, and S. I. Koo. 2002. Green tea extract inhibits the lymphatic absorption of cholesterol and α -tocopherol in ovariectomized rats. *The Journal of Nutrition* 132:1282-1288.
- Malik, T. 2016. Perspective Uses of Essential Oils in Functional Foods and Antimicrobial Packaging Material. *Examining the Development, Regulation, and Consumption of Functional Foods*:230.
- Morrissey, P.; P. Sheehy; K. Galvin; J. Kerry, and D. Buckley. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science* 49:S73-S86.
- Nakamura, M., and K. Katoh. 1981. Influence of thawing methods on several properties of rabbit meat. *Bulletin of Ishikawa Prefecture College of Agriculture (Japan)*.
- Olivo, R.; A. L. Scares; E. I. Ida, and M. Shimokomaki. 2001. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. *Journal of Food Biochemistry* 25:271-283.
- Paraskeuas, V.; K. Fegeros; C. Hunger; G. Theodorou, and K. C. Mountzouris. 2017. Dietary inclusion level effects of a phytogetic characterised by menthol and anethole on broiler growth performance, biochemical parameters including total antioxidant capacity and gene expression of immune-related biomarkers. *Animal Production Science* 57:33-41.
- Racanicci, A. M.; J. F. Menten; S. M. Alencar; R. S. Buissa, and L. H. Skibsted. 2011. Mate (*Ilex paraguariensis*) as dietary additive for broilers: performance and oxidative stability of meat. *European Food Research and Technology* 232:655-661.
- Rayner, D. V., and P. Trayhurn. 2001. Regulation of leptin production: sympathetic nervous system interactions. *Journal of Molecular Medicine* 79:8-20.
- Rostagno, H. S.; L. F. T. Albino; M. I. Hannas; J. L. Donzele; N. K. Sakomura; F. G. Perazzo; A. Saraiva; M. V. Teixeira; P. B. Rodrigues; R. F. Oliveira; S. L. T. Barreto, and C. O. Brito. 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 488p. 4^a edição. Universidade Federal de Viçosa-UFV, Viçosa.
- Sarker, M.; G. Kim, and C. Yang. 2010. Effect of green tea and biotite on performance, meat quality and organ development in Ross broiler. *Egyptian Poultry Science Journal* 30:77-88.
- SAS Institute. 2009. SAS Proprietary Software, Release 9.2. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Smet, K.; K. Raes; G. Huyghebaert; L. Haak; S. Arnouts, and S. De Smet. 2008. Lipid and protein oxidation of broiler meat as influenced by dietary natural antioxidant supplementation. *Poultry Science* 87:1682-1688.
- Sørensen, G., and S. S. Jørgensen. 1996. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 202:205-210.
- Tang, S.; J. Kerry; D. Sheehan; D. Buckley, and P. Morrissey. 2000. Dietary tea catechins and iron-induced lipid oxidation in chicken meat, liver and heart. *Meat Science* 56:285-290.
- Windisch, W.; K. Schedle; C. Plitzner, and A. Kroismayr. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science* 86:E140-E148.

- Wu, P.; C. Wen; Z. Leng, and Y. Zhou. 2014. Effect of oolong tea (*Camellia sinensis*) powder particle size on growth performance, fat deposition, meat quality and antioxidant activity in meat ducks. *Animal Feed Science and Technology* 194:131-135.
- Zhong, R.; C. Tan; X. Han; S. Tang; Z. Tan, and B. Zeng. 2009. Effect of dietary tea catechins supplementation in goats on the quality of meat kept under refrigeration. *Small Ruminant Research* 87:122-125.

V – ADITIVOS FITOGÊNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS

(Normas: Journal of Poultry Science)

RESUMO - O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de aditivos fitogênicos em pó (erva-mate, chá verde, hibisco e estévia) na alimentação de poedeiras comerciais, sobre o desempenho produtivo, qualidade dos ovos, perfil bioquímico sérico, e oxidação lipídica do ovo. Foram utilizadas 320 poedeiras comerciais (33 semanas de idade), Hy-Line W36, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, divididos em cinco tratamentos: Controle (isenta de aditivo); Controle + Erva-mate 0,5%; Controle + Chá verde 0,5%; Controle + Hibisco 0,5% e Controle + Estévia 0,5%, com oito repetições e oito aves por unidade experimental. O desempenho produtivo foi avaliado durante 4 ciclos de 21 dias cada, e a qualidade dos ovos foi avaliada nos quatro últimos dias de cada ciclo. A suplementação dos fitogênicos nas dietas não alteraram ($P>0,05$) o desempenho produtivo, perfil bioquímico sérico, peso do ovo, espessura de casca e Unidade Haugh. Porém, observou-se menor ($P<0,05$) porcentagem de casca dos ovos das aves que receberam suplementação de chá verde, quando comparado com o tratamento controle e a estévia. A oxidação lipídica dos ovos foi realizada sob esquema fatorial 5 x 6 x 2 (5 tratamentos x 6 períodos de armazenamento x 2 ambientes). Houve interação ($P<0,05$) entre tratamentos e períodos de armazenamento, para os valores de malonaldeído, avaliado pelo método de TBARS, nas gemas, apresentando menores valores para os tratamentos suplementados com erva-mate, chá verde e hibisco comparados com o controle, nos dias 0, 5 e 10 de armazenamento, independente do ambiente de armazenamento. A adição dos fitogênicos em pó na alimentação de poedeiras comerciais ao nível de 0,5% ou 5 g/kg de dieta, não influencia o desempenho das aves. A suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco na dieta de poedeiras comerciais, podem retardar a oxidação lipídica dos ovos até 10 dias de armazenamento. Assim, o armazenamento dos ovos com temperaturas baixas e o uso de antioxidantes nas dietas das aves podem melhorar a estabilidade oxidativa dos ovos.

Palavras-chave: antioxidante natural, desempenho, estabilidade oxidativa, perfil bioquímico sérico, qualidade de ovo

V - PHYTOGENIC ADDITIVES IN LAYING HENS FEEDS

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the use of powder phytogetic additives (yerba-mate, green tea, hibiscus and stevia) in diet of laying hens on productive performance, egg quality, serum biochemical profile and egg lipid oxidation. A total of 320 laying hens (33 weeks old), Hy-Line W36, distributed in a completely randomized design, were divided in five treatments: Control (free of additive); Control + 0.5% yerba mate; Control + Green tea 0.5%; Control + Hibiscus 0.5% and Control + Estevia 0.5%, with eight replicates and eight birds per experimental unit. The productive performance was evaluated during 4 cycles of 21 days each, and egg quality was evaluated in the last four days of each cycle. Dietary supplementation did not change ($P>0.05$) the productive performance, serum biochemical profile, egg weight, eggshell thickness and Haugh Unit. However, it was observed a lower ($P<0.05$) eggshell percentage of birds that received green tea supplementation when compared to control and stevia treatments. The eggs lipid oxidation was carried out under a 5 x 6 x 2 factorial scheme (5 treatments x 6 storage periods x 2 environments). There was interaction ($P<0.05$) between treatments and storage periods, for malonaldehyde values, evaluated by the TBARS method, in the buds, presenting lower values for treatments supplemented with yerba-mate, green tea and hibiscus compared to control, on days 0, 5 and 10 of storage, independent of the storage environment. In conclusion, the phytogetic additives added in the diet of commercial laying hens at the level 0.5% or 5 g/kg of diet do not compromise the birds performance. The yerba-mate, green tea and hibiscus addition decrease the eggs lipid oxidation up to 10 days of storage. Thus, the storage of eggs at low temperatures and the use of antioxidants in poultry diets may improve egg oxidative stability.

Key words: egg quality, natural antioxidant, oxidative stability, performance, serum biochemical profile

INTRODUÇÃO

Diversos são os fatores que podem afetar o desempenho produtivo de poedeiras comerciais e as qualidades externas e internas dos ovos. Entre tantos desafios, a saúde do trato gastrointestinal das aves é um dos fatores que apresenta impacto direto na produção. Nesse sentido, o uso de antibióticos como melhoradores de desempenho foi utilizado por vários anos para reduzir os desafios microbiológicos às aves, sendo de grande importância para a produção avícola industrial pelas melhorias significativas nos índices zootécnicos (Millet and Maertens, 2011). Porém, o uso frequente dos antibióticos na ração tem sido questionado em virtude da provável indução à resistência bacteriana, além da pressão por parte do consumidor para que a indústria de alimentação animal adote o uso de aditivos alternativos naturais em substituição aos antibióticos. Por outro lado, há grandes consequências da retirada destes da ração, como redução dos índices zootécnicos.

Devido a este fator, o uso de aditivos fitogênicos na alimentação animal poderia ser uma alternativa em substituição aos antibióticos como melhoradores de desempenho, a fim de manter o mesmo desempenho produtivo. Levando em consideração que o ovo possui grande quantidades de ácidos graxos poli-insaturados, que são mais susceptíveis a oxidação lipídica (Pita et al., 2004), os fitogênicos possuem propriedades antioxidantes que podem retardar a oxidação lipídica do produto final (Racan Ricci et al., 2011; Sarker et al., 2010; Yang et al., 2003), beneficiando a vida útil ou “shelf life”, e tornar-se de maior interesse para os consumidores (Pearce and Jin, 2010).

Dentre os aditivos fitogênicos, podem-se destacar a erva-mate (*Ilex paraguariensis*), chá verde (*Camellia sinensis*), hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) e a estévia (*Stevia rebaudiana*), por apresentarem elevados níveis de compostos bioativos que participam do metabolismo secundário das plantas. Os fitogênicos possuem propriedade antibacterianas (Burris et al., 2012; Silva, 2014), que podem beneficiar o desempenho produtivo das aves, melhorando sua eficiência alimentar, resultando em melhor taxa de produção de ovos (Al-Harhi 2004), além de melhorar a qualidade dos ovos e a maximizar estabilidade oxidativa da gema do ovo, pela ação antioxidante sobre a formação de radicais livres (Abdo et al., 2010). No entanto, há divergências de resultados em alguns estudos, devido a composição diferente dos fitogênicos, e a forma como é utilizada nas rações (Farahat et al., 2016).

Diante do exposto, este trabalho visa avaliar os efeitos dos aditivos fitogênicos em pó na alimentação de poedeiras comerciais, sobre o desempenho, qualidade dos ovos,

perfil bioquímico sérico e estabilidade oxidativa dos ovos armazenados em temperatura ambiente e refrigerado.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no setor de avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UEM (Registro Nº 7413140917).

Foram utilizadas 320 poedeiras da linhagem Hy-line W36, com 33 semanas de idade, distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos: Controle (isenta de aditivo); Erva-mate 0,5%; Chá verde 0,5%; Hibisco 0,5% e Estévia 0,5%, sendo oito repetições por tratamento, com oito aves por unidade experimental.

As aves foram alojadas em um galpão convencional com gaiolas de arame galvanizado, com cobertura de telhas de barro, com comedouros do tipo linear e bebedouros tipo *nipple*, com ração e água fornecidos *ad libitum*. O programa de luz adotado foi de 17 horas/dia por um período de 84 dias (4 ciclos de 21 dias), no verão.

As dietas foram formuladas à base de milho e farelo de soja (Tabela 1), utilizando os valores de composição química dos alimentos segundo Rostagno et al. (2011) e as exigências nutricionais conforme o manual da linhagem durante a fase de postura (Hy-Line W36).

Os aditivos fitogênicos foram adicionados na forma em pó. A erva-mate (*Ilex Paraguariensis*) utilizada foi de um produto comercial (Erva Mate 81[®], Guarapuava, PR, Brasil) peneirada para obter somente as folhas. As folhas de chá verde (*Camellia Sinensis*) foram obtidas da empresa “Chás Campo Verde[®]”, localizada em Curitiba, Paraná, Brasil. O hibisco (*Hibiscus sabdariffa L.*) utilizado proveniente do cálice do fruto seco, obtida pela “Unilife[®]”, localizada em Maringá, Paraná. O subproduto da estévia (*Stevia rebaudiana*), foi obtido do processamento da extração industrial dos edulcorantes das folhas da planta (Ingá Stevia Industrial S/A, Maringá, Paraná, Brasil).

Tabela 1. Composição percentual e calculada da dieta controle de poedeiras comerciais com 33 semanas de idade.

Ingredientes	Quantidade (kg)
Milho	62,98
Farelo de soja 45%	21,26
Óleo de soja	2,50
Fosfato bicálcico	2,10
Calcário calcítico	9,35
Sal comum	0,41
Supl. mineral e vitamínico ¹	0,25
Inerte (Caulim) ²	0,80
DL-Metionina 99%	0,21
L-Lisina HCl 78,5%	0,11
L-Treonina 98%	0,02
Composição calculada	
Proteína Bruta (%)	17,02
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.844
Cálcio (%)	4,41
Fosforo Disponível (%)	0,52
Lisina Digestível (%)	0,86
Metionina+Cistina Digestível (%)	0,72
Treonina Digestível (%)	0,60
Sódio (%)	0,19
Cloro (%)	0,19
Potássio (%)	0,57

¹Suplemento vitamínico e mineral (conteúdo por kg de ração): Vit. A (acetato de retinol), 10.000,00 UI; Vit. D3 (colecalfiferol), 3.200,00 UI; Vit. E (acetato de dl- α -tocoferol), 12,50 UI; Vit. B1 (tiamina), 0,96 mg/kg; Vit. B2 (riboflavina), 4,60 mg/kg; Vit. B6 (piridoxina), 1,00 mg/kg; Vit. B12 (cianocobalamina), 14,00 mcg/kg; Pantotenato de cálcio, 11,20 mg/kg; Niacina, 19,20 mg/kg; Betaina, 288,00 mg/kg; Colina, 168,00 mg/kg; BHT (hidroxitolueno butilado), 0,08 mg/kg; Selênio, 0,42 mg/kg; Manganês, 80,00 mg/kg; Ferro, 64,00 mg/kg; Cobre, 12,80 mg/kg; Zinco, 80,00 mg/kg; Cobalto, 0,32 mg/kg; Iodo 1,48 mg/kg.

²Inerte (Caulim) – A adição dos fitogênicos foi em substituição ao inerte.

Compostos fenólicos e flavonoides totais

Para determinação do teor de compostos fenólicos totais dos fitogênicos (Tabela 2), foram obtidos extratos hidroalcoólicos, realizados em triplicata, segundo a metodologia de Bloor (2001). Uma amostra de 0,5 gramas foi misturada com 20 mililitros de metanol: água (60:40 v/v) em agitação a 1800 rpm, em temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 1.000 rpm por 10 minutos. Uma alíquota de 100 μ L foi transferida para tubos de ensaio devidamente protegidos da luz, e adicionado 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 0,5 mL de carbonato de sódio (7,5%), seguindo-se de agitação em vortex. Após 30 minutos em repouso, a absorbância foi mensurada em 765 nm em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific®, Evolution 300, Pittsburgh

EUA) (Singleton, 1999). Através da equação da curva de calibração e com os valores das absorvâncias das amostras, realizou-se o cálculo do teor de compostos fenólicos totais, expresso em mg de ácido gálico/100 g de amostra.

Tabela 2. Concentração de compostos fenólicos e flavonoides (mg eq. AG/100g de amostra) dos aditivos fitogênicos.

Aditivos	Polifenóis	Flavonoides
Erva-mate	476,11	163,30
Chá verde	426,07	201,02
Hibisco	321,15	139,80
Estévia	125,72	14,74

Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal - UEM.

mg eq. AG= miligramas equivalentes de ácido gálico.

Desempenho produtivo

Ao final de cada ciclo de 21 dias, foi calculado a produção de ovos, o consumo de ração e conversão alimentar (kg de ração/dúzia de ovos e kg de ração/kg de ovos), por meio da pesagem das rações no início e fim de cada ciclo. Os ovos foram colhidos diariamente no período da manhã e anotados separadamente por unidade experimental para a obtenção da produção total de ovos. Em caso de mortalidade das aves, a ração e a ave morta foram pesadas para correção do consumo de ração.

Qualidade dos ovos

Nos últimos quatro dias de cada ciclo, os ovos foram colhidos, devidamente identificados e pesados individualmente em balança de precisão digital para obtenção do peso médio dos ovos. Posteriormente, foram submetidos ao teste de gravidade específica pelo método de imersão em solução salina com diferentes densidades (1,070; 1,074; 1,078; 1,082 e 1,086 g ml⁻¹), calibradas com auxílio de um densímetro de petróleo, e os ovos foram imersos, da menor para a maior densidade, e separados de acordo com sua densidade. Em seguida, foi realizado a medida da altura de albúmen para determinação da Unidade Haugh, sendo separados 3 ovos por repetição e quebrados em superfície de vidro plano. A medida da altura do albúmen foi obtida a 5 mm da gema utilizando um paquímetro digital. Para obtenção da Unidade Haugh, foi utilizada a seguinte fórmula, determinada por Haugh (1937): $UH = 100 \times \log (h + 7,57 - 1,7 p^{0,37})$, Em que: “h” = altura do albúmen (mm) e “p” = peso do ovo (g).

As cascas foram lavadas e secas em temperatura ambiente por 72 horas. Após a secagem foram pesadas em balança de precisão digital e mensurada a espessura em quatro pontos na região central da casca, com auxílio de um micrômetro digital.

Perfil bioquímico sérico

Ao final do período experimental, foram colhidas 3,0 ml de amostras de sangue da veia jugular, sem jejum, de uma ave por unidade experimental, sem anticoagulante, para obtenção de soro. As amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm, durante 10 minutos, posteriormente os sobrenadantes foram transferidos para tubos de polietileno e foram armazenadas em freezer até a realização das análises. Foram determinadas as concentrações séricas de colesterol total, triglicerídeos, glicose e lipoproteína de alta densidade (HDL), com a utilização de kits comerciais (Gold Analisa Ltda, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Oxidação lipídica dos ovos

As análises da estabilidade oxidativa dos ovos foram avaliadas em duas temperaturas de armazenagem (refrigerado e temperatura ambiente), durante o período de 0, 5, 10, 20, 40 e 60 dias de armazenamento, sob um esquema fatorial 5 x 6 x 2 (5 tratamentos x 6 períodos de armazenamento x 2 ambientes). Foram colhidos 36 ovos de cada tratamento, identificados, acondicionados em bandejas de papelão e armazenados, metade dos ovos em ambiente refrigerado (média de 4°C) e a outra metade, em ambiente não refrigerado (média de 22°C). Em cada um dos dias de avaliação, foram utilizados 6 ovos de cada tratamento, sendo 3 de cada ambiente, seguindo a metodologia de TBARS descrita por Jung et al. (2012). Para realizar a extração do malonaldeído, foram pesados 2,5 g de gema em um tubo falcon, posteriormente foram adicionados 7,5 ml de TCA e homogeneizado em agitador tipo vortex por 1 min. Posteriormente, foi retirado 2 mL desta solução e adicionados 2 mL de TBA (solução 0,02 M de ácido 2- tiobarbitúrico em 15% ácido tricloroacético), em duplicata, a um tubo de ensaio com tampa, em que foram aquecidos em banho-maria a 100°C por 30 minutos. Após os 30 minutos, os tubos foram resfriados em um recipiente com água, por um período de 5 minutos, para posteriormente serem centrifugados a 3000 rpm, por 15 minutos, e realizado a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 532 nm. Para os cálculos, foi utilizada uma curva padrão de malonaldeído e os dados foram expressos em mg de MDA/kg de gema.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com auxílio do procedimento General Linear Model (GLM) do programa estatístico SAS (SAS 9.0 Institute, 2009) ao nível de significância de 5%. As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as variáveis de desempenho, não houve efeito ($P>0,05$) para produção de ovos, consumo de ração e conversão alimentar (kg/kg e kg/dúzia) com a suplementação de aditivos fitogênicos na alimentação de poedeiras comerciais (Tabela 3). A ausência de efeitos sobre o desempenho das poedeiras, pode ser pelo baixo nível de suplementação. A adição de 3,0% de chá verde em dietas de poedeiras, com 34 semanas de idade, aumentou a produção de ovos, diminuiu o consumo de ração, melhorando a conversão alimentar (Adbo et al., 2010), atribuindo o efeito dos flavonoides, principalmente as catequinas, que influenciaram de forma positiva a microflora intestinal, reduzindo agentes patogênicos, resultando em melhor utilização e absorção de nutrientes (Lin et al., 1998).

O alto teor de catequinas (15,72%) encontradas no chá verde melhora a produção de ovos com adição de 1,0 e 1,5% de chá verde em pó nas dietas de poedeiras comerciais, com 40 semanas de idade (Uganbayar et al., 2005), devido a suas propriedades antimicrobianas, antifúngicas e anti-inflamatórias (Abdel-Azeem 2005). O esteviosídeo presente na estévia, não pode ser absorvido no intestino das aves, podendo explicar a ausência de resultado para o desempenho de poedeiras comerciais (Geuns et. al., 2008), entretanto, a estévia pode atuar como um prebiótico (Atteh et al., 2008).

Tabela 3. Desempenho (média \pm desvio padrão) de poedeiras comerciais, suplementadas com aditivos fitogênicos nas dietas.

Aditivos	Produção de ovos (%)	Consumo de ração (g/ave/dia)	Conversão alimentar (kg/kg)	Conversão alimentar (kg/dz)	Consumo de polifenóis (mg/ave/dia)	Consumo de flavonoides (mg/ave/dia)
Controle	88.96 \pm 1.05	102.63 \pm 1.24	1.830 \pm 0.025	1.398 \pm 0.023	0,00	0,00
Erva-mate	89.88 \pm 1.02	104.26 \pm 0.54	1.845 \pm 0.035	1.396 \pm 0.024	2,475	0,851
Chá verde	89.52 \pm 1.49	103.53 \pm 1.10	1.819 \pm 0.038	1.391 \pm 0.017	2,205	1,041
Hibisco	87.96 \pm 0.60	102.59 \pm 0.67	1.840 \pm 0.025	1.398 \pm 0.019	1,652	0,717
Estévia	88.49 \pm 1.23	102.91 \pm 0.82	1.833 \pm 0.034	1.397 \pm 0.023	0,650	0,076
CV (%)	3.17	2.19	4.38	3.91		
<i>P-Valor</i>	0.586	0.926	0.901	0.774		

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).
CV= Coeficiente de variação.

Para os parâmetros de qualidade dos ovos (peso médio dos ovos, espessura de casca e Unidade Haugh) não foram observados efeitos ($P>0,05$) com a suplementação de fitogênicos nas dietas das aves. Porém, houve menor ($P<0,05$) porcentagem de casca dos ovos para as aves que receberam suplementação de chá verde, quando comparadas ao tratamento controle e a estévia, sem diferir dos tratamentos com erva-mate e do hibisco. Um dos fatores que pode explicar a menor porcentagem de casca dos ovos com adição de chá verde, é o fato deste possuir grande quantidade de flavonoides (201,02 mg eq. de AG/100g de amostra), principalmente as catequinas, os quais podem afetar a absorção de alguns nutrientes da dieta, como cálcio, fósforo, vitaminas e minerais (Saigg and Silva, 2009). Quando o consumo de chá verde é acumulativo, há forte afinidade por metais sendo considerados poderosos quelantes de ferro, cobre e zinco (Frei and Higdon, 2003; Valenzuela, 2004). Os minerais fazem parte fundamental na formação e estrutura da casca do ovo, sendo constituída por 98,2% de carbonato de cálcio; 0,9% de carbonato de magnésio e 0,9% de fosfato de cálcio (Macari and Mendes, 2005). O zinco é um cofator da anidrase carbônica, enzima responsável pela suplementação de íons carbonato durante a calcificação dos ossos e na formação da casca do ovo (Leeson and Summers, 2001). Os minerais, zinco e manganês, desempenham papel importante na formação da casca do ovo (Mabe et al., 2003), quando se tem deficiência destes compromete a formação da casca, podendo assim produzir cascas com maior ocorrência de áreas translúcidas (Swiatkiewicz and Koreleski, 2008), por consequência podem ser os responsáveis pela baixa porcentagem de casca.

Do mesmo modo, a gravidade específica dos ovos foi menor ($P<0,05$) para as aves que receberam suplementação de chá verde na alimentação, comparado ao tratamento controle, não diferindo do tratamento com erva-mate, hibisco e estévia (Tabela 4). A menor gravidade específica dos ovos pode estar relacionado com a menor porcentagem de casca encontrada, ou seja, ovos com maior porosidade da casca aumenta as perdas de umidade e de dióxido de carbono, e pode levar a perda de peso dos ovos (Stadelman, 1995).

Tabela 4. Qualidade dos ovos (média \pm desvio padrão) de poedeiras comerciais alimentadas, suplementadas com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Peso médio dos ovos (g)	Casca (%)	Espessura de casca (mm)	Unidade Haugh	Gravidade específica (g/ml)
Controle	63.25 \pm 0.33	8.81 \pm 0.07 a	0.374 \pm 0.004	91.43 \pm 0.73	1.0808 \pm 0.0004 a
Erva-mate	63.05 \pm 0.29	8.56 \pm 0.05 ab	0.369 \pm 0.001	91.40 \pm 0.37	1.0795 \pm 0.0004 ab
Chá verde	63.42 \pm 0.53	8.47 \pm 0.08 b	0.365 \pm 0.002	92.48 \pm 0.45	1.0790 \pm 0.0003 b
Hibisco	62.80 \pm 0.62	8.62 \pm 0.07 ab	0.367 \pm 0.003	90.84 \pm 0.73	1.0793 \pm 0.0005 ab
Estévia	62.80 \pm 0.47	8.82 \pm 0.05 a	0.375 \pm 0.002	91.22 \pm 0.35	1.0808 \pm 0.0004 ab
CV (%)	1.93	2.43	1.96	1.67	0.11
<i>P-Valor</i>	0.836	0.001	0.064	0.339	0.010

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
CV= Coeficiente de variação.

Não foi observado efeito (P>0,05) sobre as concentrações de colesterol total, triglicerídeos, glicose e lipoproteínas de alta densidade (HDL) com a suplementação destes fitogênicos nas dietas (Tabela 5).

Os polifenóis podem afetar o metabolismo lipídico, inibindo a absorção de colesterol ao interferir com a solubilização micelar do colesterol no trato digestivo (Gomikawa et al., 2008), devido a ação dos polifenóis sobre a ação das lipases pancreáticas, reduzindo a absorção do colesterol dietético (Li et al., 2015). Porém, a adição de 500 mg de fitogênico/kg de dieta pode não ter sido suficiente para influenciar na absorção de lipídeos, assim não prejudicou o desempenho das aves. Por outro lado, compostos bioativos, presentes nos fitogênicos atuam na redução do risco de aterosclerose, bem como nas alterações no metabolismo do colesterol, podendo prevenir a formação do LDL oxidado e elevar a capacidade antioxidante total do sangue (Manach et al., 2004).

Tabela 5. Perfil bioquímico sérico (mg/dL) (média \pm desvio padrão) de poedeiras comerciais, suplementadas com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Colesterol total	Triglicerídeos	Glicose	HDL
Controle	114.0 \pm 17.3	1279.8 \pm 131.1	166.3 \pm 16.8	75.2 \pm 13.7
Erva-mate	104.4 \pm 19.1	1266.2 \pm 163.4	141.7 \pm 29.9	72.6 \pm 8.9
Chá verde	101.4 \pm 22.5	1246.4 \pm 126.9	150.1 \pm 50.4	71.3 \pm 13.4
Hibisco	108.0 \pm 21.1	1251.4 \pm 175.7	148.6 \pm 56.9	70.0 \pm 17.3
Estévia	111.4 \pm 15.4	1272.8 \pm 109.9	170.5 \pm 14.1	74.1 \pm 6.5
CV (%)	16.89	10.42	23.7	15.77
<i>P-Valor</i>	0.861	0.995	0.745	0.965

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
CV= Coeficiente de variação.

Houve interação ($P < 0,05$) para oxidação lipídica dos ovos entre tratamentos e dias de armazenamento, para os valores de malonaldeído (MDA) na gema dos ovos de poedeiras comerciais, alimentadas com dietas contendo aditivos fitogênicos (Tabela 6).

Tabela 6. Valores de malonaldeído (mg/kg) em gema de ovos de poedeiras comerciais, suplementadas com aditivos fitogênicos nas dietas.

Tratamentos	Dias de armazenamento					
	0	5	10	20	40	60
Ambiente 4°C						
Controle	4.251	5.631	6.537	7.204	7.897	8.183
Erva-mate	3.709	5.260	6.073	7.088	7.798	8.104
Chá verde	3.857	5.291	6.153	7.108	7.778	8.149
Hibisco	3.914	5.477	6.370	7.116	7.857	8.155
Estévia	4.176	5.532	6.436	7.181	7.892	8.186
Ambiente 22°C						
Controle	4.251	6.745	7.550	8.226	8.758	8.894
Erva-mate	3.709	6.180	7.183	8.042	8.531	8.722
Chá verde	3.857	6.253	7.283	8.083	8.615	8.818
Hibisco	3.914	6.340	7.417	8.113	8.685	8.826
Estévia	4.176	6.402	7.483	8.195	8.750	8.858
Valores de MDA (mg/kg)						
Controle	7.010 a					
Erva-mate	6.700 c					
Chá verde	6.770 c					
Hibisco	6.849 b					
Estévia	6.939 a					
Ambiente						
22°C	7.229 a					
4°C	6.479 b					
Período (dias)						
0	3.981 e					
5	6.384 d					
10	7.383 c					
20	8.132 b					
40	8.668 a					
60	8.823 a					
P-Valor						
Tratamento	<0.001					
Dia	<0.001					
Ambiente	<0.001					
Tratamento x Dia	0.007					
Tratamento x Ambiente	0.214					
Ambiente x Dia	0.001					
Tratamento x Ambiente x Dia	0.452					

^{ab}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os valores de MDA dos ovos aumentam conforme os dias de armazenamento, isso mostra a evolução da oxidação lipídica, mesmo em ambiente refrigerado (4°C) e em temperatura ambiente (22°C), no entanto a autooxidação dos ovos armazenados sob refrigeração é reduzida, assim o armazenamento adequado com temperaturas baixas e o uso de antioxidantes podem retardar os processos oxidativos dos ovos.

Desdobrando a interação entre os tratamentos e dias de armazenamento dos ovos (Tabela 7), houve menores valores de MDA para os ovos das aves que receberam suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco quando comparados com a dieta controle no dia 0. Os menores valores de MDA dos ovos das aves que receberam suplementação de erva-mate e chá verde se mantiveram nos períodos 5 e 10 dias de armazenamento. No entanto, nos períodos 20, 40 e 60 dias de armazenamento a oxidação lipídica foi semelhante para os tratamentos. Conforme aumentou os dias de armazenamento, houve aumento gradativo da oxidação lipídica. Avaliando os tratamentos, a suplementação de erva-mate, chá verde e hibisco, reduziram os valores de MDA, quando comparados com o tratamento controle (Tabela 7).

Tabela 7. Desdobramento da interação tratamentos e dias de armazenamento para valores de malonaldeído (mg/kg) em gema de ovos de poedeiras comerciais, alimentadas com dietas contendo aditivos fitogênicos.

Tratamentos	Dias de armazenamento					
	0	5	10	20	40	60
Controle	4.251 Ea	6.188 Da	7.044 Ca	7.715 Ba	8.328 Aa	8.538 Aa
Erva-mate	3.709 Ec	5.720 Db	6.628 Cb	7.565 Ba	8.165 Aa	8.413 Aa
Chá verde	3.857 Ebc	5.772 Db	6.718 Cb	7.596 Ba	8.196 Aa	8.484 Aa
Hibisco	3.914 Ebc	5.908 Dab	6.894 Cab	7.615 Ba	8.271 Aa	8.491 Aa
Estévia	4.176 Eab	5.967 Dab	6.960 Cab	7.688 Ba	8.321 Aa	8.522 Aa

^{ab}Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma linha e minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A redução dos valores de malonaldeído na gema do ovos das aves alimentadas com aditivos fitogênicos, pode ser pela possível transferência dos polifenóis para gema do ovo promovendo efeitos inibitórios da oxidação lipídica da gema do ovo (Uganbayar et al., 2005). Os polifenóis são estruturas químicas que representam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, conferindo o poder antioxidante (Gülçin, 2012), que podem evitar as reações em cadeia do processo oxidativo, ligando-se ao oxigênio, retardando a etapa de iniciação e/ou interrompendo a etapa de propagação pela destruição ou ligação dos radicais livres ou pela inibição dos catalisadores e estabilização dos hidroperóxidos (Gülçin, 2012; Shahidi et al., 1992). Porém, são necessários níveis

suficientes de antioxidantes dietéticos para estabilizar os radicais livres altamente reativos e para estabelecer um equilíbrio entre a produção de antioxidantes e radicais livres (Panda and Cherian, 2014).

Desdobrando a interação entre ambiente e dias de armazenamento dos ovos (Tabela 8), houve aumento nos valores de MDA até o período de 40 dias em ambos ambientes. A partir do dia 0 houve menores valores de MDA para os ovos que foram armazenados em ambiente refrigerado até 40 dias. A evolução lipídica elevada, favorecida pela temperatura ambiente principalmente e o tempo de armazenamento, o malonaldeído combina com outros componentes do ovo ou formando dímeros ou trímeros de malonaldeído, resultando em compostos estáveis, não se complexando com o ácido tiobarbitúrico, assim subestimando os valores mensurados pelo método de TBARS, no período de 60 dias de armazenamento (Hayat et al., 2010). Em pesquisas com ovos comerciais observou-se que durante o armazenamento, tanto em condições refrigeradas quanto em temperatura ambiente, os ovos *in natura* sofrem oxidação, sendo mais evidente em altas temperaturas (Franchini et al., 2002). Além disso, os ovos possuem grandes quantidades de ácidos graxos insaturados, os quais são menos estáveis ao processo de oxidação lipídica e isso limita a capacidade de conservação dos ovos (Pita et al., 2004). O emprego do conhecimento técnico e científico na produção avícola de ovos armazenados em temperatura ambiente e refrigerado pode contribuir para a comercialização de um produto dentro dos padrões de qualidade esperados pelos consumidores, pelo fato dos compradores ter acesso às características internas, de estrutura física e flavor, somente no momento de sua utilização.

Tabela 8. Desdobramento da interação ambiente e dias de armazenamento para valores de malonaldeído (mg/kg) em gema de ovos de poedeiras comerciais, alimentadas com dietas contendo aditivos fitogênicos.

Ambiente	Dias de armazenamento					
	0	5	10	20	40	60
4°C	3,981 Ea	5,438 Db	6,314 Cb	7,139 Bb	7,844 Ab	8,155 Aa
22°C	3,981 Ea	6,384 Da	7,383 Ca	8,132 Ba	8,668 Aa	8,823 Aa

^{ab}Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma linha e minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

CONCLUSÃO

A adição dos fitogênicos em pó na alimentação de poedeiras comerciais, ao nível de 0,5% ou 5 g/kg de dieta, não influencia o desempenho das aves. A suplementação de erva-

mate, chá verde e hibisco na dieta de poedeiras comerciais, podem retardar a oxidação lipídica dos ovos até 10 dias de armazenamento. Assim, o armazenamento dos ovos com temperaturas baixas e o uso de antioxidantes nas dietas das aves podem melhorar a estabilidade oxidativa dos ovos.

REFERÊNCIAS

- Abdel-Azeem, F. 2005. Green tea flowers (*Camellia sinensis*) as natural anti-oxidants feed additives in growing Japanese quail diets. *Egyptian Poultry Science Journal* 25:569-588.
- Abdo, Z. M.; R. Hassan; A. A. El-Salam, and S. A. Helmy. 2010. Effect of adding green tea and its aqueous extract as natural antioxidants to laying hen diet on productive, reproductive performance and egg quality during storage and its content of cholesterol. *Egyptian Poultry Science Journal* 30:1121-1149.
- Al-Harhi, M. 2004. Responses of laying hens to different levels of amoxicillin, hot pepper or green tea and their effects on productive performance, egg quality and chemical composition of yolk and blood plasma constituents. *Egyptian Poultry Science Journal* 24:845-868.
- Biswas, M. A., and M. Wakita. 2001. Comparison of two dietary factors, green tea powder feeding and feed restriction, influencing laying performance and egg quality in hens. *Bulletin of the Faculty of Bioresources-Mie University (Japan)*.
- Bloor, S. J. 2001. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Methods in Enzymology* 335:3-14.
- Burris, K. P.; P. Davidson; C. N. Stewart Jr; S. Zivanovic, and F. Harte. 2012. Aqueous extracts of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) as a natural antimicrobial against *Escherichia coli* O157: H7 in a microbiological medium and pH 6.0 apple juice. *Journal of Food Protection* 75:753-757.
- Farahat, M.; F. Abdallah; T. Abdel-Hamid, and A. Hernandez-Santana. 2016. Effect of supplementing broiler chicken diets with green tea extract on the growth performance, lipid profile, antioxidant status and immune response. *British Poultry Science* 57:714-722.
- Franchini, A.; F. Sirri; N. Tallarico; G. Minelli; N. Iaffaldano, and A. Meluzzi. 2002. Oxidative stability and sensory and functional properties of eggs from laying hens fed supranutritional doses of vitamins E and C. *Poultry Science* 81:1744-1750.
- Frei, B., and J. V. Higdon. 2003. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *The Journal of Nutrition* 133:3275S-3284S.
- Gomikawa, S.; Y. Ishikawa; W. Hayase; Y. Haratake; N. Hirano; H. Matuura; A. Mizowaki; A. Murakami, and M. Yamamoto. 2008. Effect of ground green tea drinking for 2 weeks on the susceptibility of plasma and LDL to the oxidation ex vivo in healthy volunteers. *Kobe Journal of Medical Sciences* 54:62-72.
- Gülçin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology* 86:345-391.
- Hashemi, S., and H. Davoodi. 2010. Phytochemicals as new class of feed additive in poultry industry. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9:2295-2304.
- Haugh, R. 1937. The Haugh unit for measuring egg quality.

- Hayat, Z.; G. Cherian; T. Pasha; F. Khattak, and M. Jabbar. 2010. Oxidative stability and lipid components of eggs from flax-fed hens: Effect of dietary antioxidants and storage. *Poultry Science* 89:1285-1292.
- Hy-Line International. Hy-line variety W-36 commercial management guide 2009-2011. 22p. West Des Moines: Hy-Line International, 2009-2011.
- Jung, S.; C. R. Jo; M. G. Kang; D. U. Ahn, and K. C. Nam. 2012. Elucidation of antioxidant activity of phosvitin extracted from egg yolk using ground meat. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 32:162-167.
- Leeson, S., and J. D. Summers. 2001. Nutrition of the chicken. 4^a Edition. Guelph, Ontario: University Books. 591p.
- Mabe, I.; C. Rapp; M. Bain, and Y. Nys. 2003. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. *Poultry Science* 82:1903-1913.
- Macari, M., and A. A. Mendes. 2005. Manejo de matrizes de corte. FACTA.
- Manach, C., C. Scalbert, C. Morand, C. Remezy, and L. Jimenez. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79:727-747.
- Maron, D. J.; G. P. Lu; N. S. Cai; Z. G. Wu; Y. H. Li; H. Chen; J. Q. Zhu; X. J. Jin; B. C. Wouters, and J. Zhao. 2003. Cholesterol-lowering effect of a theaflavin-enriched green tea extract: a randomized controlled trial. *Archives of Internal Medicine* 163:1448-1453.
- Millet, S., and L. Maertens. 2011. The European ban on antibiotic growth promoters in animal feed: from challenges to opportunities. *The Veterinary Journal* 187:143-144.
- Panda, A. K., and G. Cherian. 2014. Role of vitamin E in counteracting oxidative stress in poultry. *The Journal of Poultry Science* 51:109-117.
- Pearce, M., and G. Jin. 2010. Aditivos Fitogênicos. *Porkworld* 58:128-136.
- Pita, M. C. G.; E. P. Neto; L. M. Nakaoka, and C. X. de Mendonça Junior. 2004. Efeito da adição de ácidos graxos insaturados e de vitamina E à dieta de galinhas e seu reflexo na composição lipídica e incorporação de alfa-tocoferol na gema do ovo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 41:25-31.
- Racanici, A. M.; J. F. Menten; S. M. Alencar; R. S. Buissa, and L. H. Skibsted. 2011. Mate (*Ilex paraguariensis*) as dietary additive for broilers: performance and oxidative stability of meat. *European Food Research and Technology* 232:655-661.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto, and R. F. Euclides. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. p.186. Universidade Federal de Viçosa-UFV, Viçosa.
- Saigg, N. L., and M. C. Silva. 2009. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana- doi: 10.5102/ucs.v7i1.882. *Universitas: Ciências da Saúde* 7:69-89.
- Sarker, M. S. K.; S.-Y. Ko; G.-M. Kim, and C.-J. Yang. 2010. Effects of *Camellia sinensis* and mixed probiotics on the growth performance and body composition in broiler. *Journal of Medicinal Plants Research* 4:546-550.
- SAS Institute. 2009. SAS Proprietary Software, Release 9.0. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Shahidi, F.; P. Janitha, and P. Wanasundara. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* 32:67-103.
- Silva, A. B. d. 2014. Caracterização antibacteriana, química e fitoquímica de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* L.(mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L.(hibisco-da-síria) como fonte de alimento.

- Singleton, V. L. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and their antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299:152-178.
- Stadelman, W. 1995. Quality identification of shell eggs. *Egg Science and Technology* 39.
- Swiatkiewicz, S., and J. Koreleski. 2008. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. *Veterinarni Medicina* 53:555-563.
- Uuganbayar, D.; I. Bae; K. Choi; I. Shin; J. Firman, and C. Yang. 2005. Effects of green tea powder on laying performance and egg quality in laying hens. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 18:1769.
- Valenzuela, B. 2004. El consumo te y la salud: características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. *Revista Chilena de Nutrición* 31:72-82.
- Yang, C.; I. Yang; D. Oh; I. Bae; S. Cho; I. Kong; D. Uuganbayar; I. Nou, and K. Choi. 2003. Effect of green tea by-product on performance and body composition in broiler chicks. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 16:867-872.

VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação da erva-mate na dieta de frangos de corte, pode melhorar a conversão alimentar durante a fase inicial de criação de 1 a 21 dias. Além disso, os fitogênicos, erva-mate, chá verde e hibisco influenciaram positivamente os parâmetros imunológicos, não sendo observado efeitos com o uso da estévia como aditivo.

Na fase de 21 a 42 dias de idade, a suplementação de 1% de erva-mate, chá verde e hibisco, pode diminuir o consumo de ração e ganho de peso das aves. Todavia, este nível de suplementação, demonstrou grande capacidade antioxidante, reduzindo a oxidação lipídica da carne, melhorando a qualidade da carne até o período de 21 dias de armazenamento em freezer.

Considerando os resultados obtidos dos fitogênicos em relação aos parâmetros imunitários, anti-inflamatórios, e de oxidação lipídica da carne e do ovo, estes mostram-se favoráveis quando suplementados nas dietas de frangos de corte, podendo assim ser uma nova opção de aditivo para a prevenção de situações de estresse térmico e sanitários na avicultura, além de poder melhorar a qualidade do produto final, retardando a oxidação lipídica.

Alguns estudos têm demonstrado o potencial dos fitogênicos, no entanto, a discrepância dos resultados na literatura, decorrente da região geográfica onde foi obtido o fitogênico, a fertilidade do solo, a parte da planta utilizada, tudo isso influencia na concentração e efetividade de seus princípios ativos. No geral, os níveis de inclusão, forma de administração e de preparo dos fitogênicos também influenciam os resultados.

Como consideração para novas pesquisas, avaliações da microbiota intestinal das aves, poderiam ser realizadas para esclarecer as ações da suplementação dos fitogênicos com desafios sanitários, pelo fato de conter estudos *in vitro* demonstrando ação antibacteriana e poucos estudos *in vivo*. Além disso, seria necessária uma análise econômica para avaliar o uso destes fitogênicos a nível industrial. Outro fator, seria estudar estes fitogênicos em rações peletizadas, como são as rações nas indústrias avícolas, e avaliar a capacidade destes aditivos.