



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

VALQUÍRIA SOUSA SILVA

**EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE *Syzygium cumini* L NA ALIMENTAÇÃO
DE POEDEIRAS LEVES**

FORTALEZA

2023

VALQUÍRIA SOUSA SILVA

EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE *Syzygium cumini* L NA ALIMENTAÇÃO DE
POEDEIRAS LEVES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Zootecnia. Linha de Pesquisa: Produção de Não Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.

Coorientador: Dr. Rafael Carlos Nepomuceno

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S584e Silva, Valquíria Sousa.
Extrato etanólico da folha de *Syzygium cumini* L na alimentação de poedeiras
leves / Valquíria Sousa Silva. – 2023.
77 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.
Coorientação: Prof. Dr. Rafael Carlos Nepomuceno.

1. Aditivo fitogênico. 2. Antioxidante. 3. Compostos fenólicos. 4. Oxidação lipídica. I. Título.
CDD 636.08

VALQUÍRIA SOUSA SILVA

EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE *Syzygium cumini* L NA ALIMENTAÇÃO DE
POEDEIRAS LEVES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Zootecnia. Linha de Pesquisa: Produção de Não Ruminantes.

Aprovado em: 10/03/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Germano Augusto Jerônimo do Nascimento
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Leilane Rocha Barros Dourado
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Profa. Dra. Silvana Cavalcante Bastos Leite
Universidade do Vale do Acaraú (UVA)

A Deus.

Meus pais, irmãos e amigos.

Todos àqueles que acreditam na educação e na ciência.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) - EDITAL 07/2021 - PS1-0186-00082.01.00/21 e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Bolsa de estudos - Código de Financiamento 001.

Início agradecendo a Deus, e aos meus pais, a Sra. Valdir de Sousa Ribeiro e o Sr. José Pereira da Silva, que sempre primaram pela minha educação, mesmo ao meio de orçamento apertado, frustrações, mudanças e distância, nunca desistiram de acreditar em mim e na educação como ferramenta de transformação.

Aos meus irmãos, que dentro das suas realidades sempre me apoiaram.

Aos meus amigos, Felipe, Carol, Cris e Denise, por todo apoio, cumplicidade, companheirismo, compreensão, surtos, momentos de laser e pelas palavras de ânimo nos momentos tristes.

A Amanda, Luana, Maiara, Cayo, Anna Kayllyny, Rithiele, Cirliane e Carliane, amizades que pude fazer durante o doutorado e que com certeza levarei por toda a vida. Obrigada Amanda e Luana por me fazer sentir como parte da família de vocês, por sempre lembrarem de mim e estarem presentes em todos os momentos.

Ao meu Orientador professor Dr. Ednardo Rodrigues Freitas pela orientação, ensinamentos, e confiança durante esses quatro anos.

Estendo meus agradecimentos ao Dr. Rafael Carlos Nepomuceno pela Coorientação, aos alunos da pós-graduação, graduação e aos bolsistas que compõem o grupo NEPEAVI e aos funcionários do aviário. Obrigada por toda ajuda na realização das atividades do doutorado.

Agradeço ainda a Universidade Federal do Ceará e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, a todos os professores, funcionários, colegas dos Cursos de mestrado e doutorado em Zootecnia da UFC e a banca avaliadora desde trabalho.

Encerro meus agradecimentos ressaltando a importância de cada um que foi citado neste agradecimento, saibam que de alguma forma vocês me ajudaram a alcançar esse objetivo, muito obrigada!

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração de poedeiras leves sobre o desempenho produtivo, qualidade de ovos frescos e armazenados, bem como a oxidação lipídica no organismo das aves. Foram utilizadas 336 poedeiras Lohmann LS - Lite com 31 semanas de idade, em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos e seis repetições de oito aves. Os tratamentos foram constituídos por rações, sendo controle negativo (sem adição de antioxidante), controle positivo (adição de 200 mg/kg de ração do antioxidante BHT) e cinco rações com a inclusão dos níveis extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L de 200, 400, 600, 800, e 1000 mg/kg de ração. Foram avaliados o desempenho produtivo, qualidade interna e externa dos ovos e a oxidação lipídica do soro sanguíneo, fígado e segmentos dos órgãos reprodutores. Após 84 dias de alimentação, os ovos provenientes dessas aves foram avaliados frescos e armazenados por 28 dias sob temperatura ambiente nos quais foram determinados os indicadores de qualidade interna e externa, fenólicos totais, capacidade e atividade antioxidante (DPPH e ABTS) nos ovos e a oxidação lipídica (TBARS) na gema. Dessa forma, não houve efeito significativo sobre os parâmetros de desempenho, qualidade dos ovos e oxidação lipídica do sangue, fígado e segmentos dos órgãos reprodutivos. Na análise dos ovos frescos e armazenados, observou-se diminuição da qualidade dos ovos armazenados por 28 dias, e interação entre os fatores (rações e tempo de armazenamento) para fenólicos totais, na qual verificou-se que os ovos das aves alimentadas com as diferentes rações apresentaram menor proporção de fenólicos com 28 dias, e a quantidade de fenólicos nos ovos das aves alimentada com a ração sem aditivo ou com BHT foram menores em relação ao das aves alimentadas com os níveis de extrato, tanto nos ovos frescos quanto nos armazenados. Para DPPH e ABTS nos ovos, os valores encontrados nos ovos das aves alimentadas com rações sem aditivo ou com BHT foram menores em relação aos ovos das aves alimentadas com os diferentes níveis de extrato. Os valores de TBARS determinados nas gemas das aves alimentadas com a ração sem aditivo foram maiores em relação ao BHT e aos diferentes níveis de extrato, já nos diferentes níveis de adição do extrato na ração, houve diferença apenas entre os resultados com a dose de 1000 mg/kg em relação às doses de 600 e 800 mg/kg. Também se verificou efeito quadrático dos níveis de extrato sobre os valores de TBARS com redução da oxidação lipídica até o nível estimado de 571,43 mg do extrato/kg de ração. Conclui-se que a inclusão de até 1000 mg/kg de extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração de postura não apresenta efeito adverso sobre o desempenho produtivo e a qualidade de ovos e bem como não afeta a oxidação lipídica no organismo.

Contudo, aumenta a quantidade de fenólicos totais, DPPH e ABTS dos ovos e reduz a oxidação lipídica das gemas em ovos frescos e armazenados por 28 dias, sendo o nível ótimo de inclusão estimado em 571,43 mg do extrato /kg de ração.

Palavras-chave: aditivo fitogênico; antioxidante; compostos fenólicos; oxidação lipídica.

ABSTRACT

The objective of this study is to evaluate the ethanolic extract of the leaf of *Syzygium cumini* L in the diet of laying hens on the productive performance, quality of fresh and stored eggs, as well as lipid oxidation in the body of the birds. A total of 336 31-week-old Lohmann LS - Lite laying hens were used in a completely randomized design with seven treatments and six replications of eight birds. The treatments consisted of rations, being negative control (without addition of antioxidant), positive control (addition of 200 mg/kg of BHT antioxidant ration) and five rations with the inclusion of levels of ethanolic extract of the leaf of *Syzygium cumini* L of 200, 400, 600, 800, and 1000 mg/kg of feed. Productive performance, internal and external quality of eggs and lipid oxidation of blood serum, liver and segments of reproductive organs were evaluated. After 84 days of feeding, the eggs from these birds were evaluated fresh and stored for 28 days at room temperature in which the indicators of internal and external quality, total phenolics, capacity and antioxidant activity (DPPH and ABTS) in the eggs and the lipid oxidation (TBARS) in yolk. There was no significant effect on performance parameters, egg quality and lipid oxidation of blood, liver and reproductive organ segments. In the analysis of fresh and stored eggs, a decrease in the quality of eggs stored for 28 days was observed, and interaction between factors (rations and storage time) for total phenolics, where it was verified that the eggs of birds fed with the different rations showed a lower proportion of phenolics at 28 days, and the amount of phenolics in the eggs of birds fed the diet without additive or with BHT were lower in relation to birds fed with the levels of extract, both in fresh and stored eggs. For DPPH and ABTS in eggs, the values found in eggs from birds fed with diets without additive or with BHT were lower in relation to eggs from birds fed with different levels of extract. The TBARS values determined in the yolks of the birds fed with the diet without additive were higher in relation to BHT and the different levels of extract, since in the different levels of addition of the extract in the diet, there was difference only between the results with the dose of 1000 mg/kg in relation to doses of 600 and 800 mg/kg. There was also a quadratic effect of extract levels on TBARS values with a reduction in lipid oxidation up to the estimated level of 571.43 mg of extract/kg of feed. It is concluded that the inclusion of up to 1000 mg/kg of ethanolic extract from the leaf of *Syzygium cumini* L in the laying diet does not have an adverse effect on productive performance and egg quality, nor does it affect lipid oxidation in the body. However, it increases the amount of total phenolics, DPPH and ABTS in the eggs and reduces the lipid oxidation of the yolks in fresh eggs and eggs stored for 28 days, with the optimum level of inclusion estimated at 571.43 mg of extract/kg of feed.

Keywords: antioxidant; lipid oxidation; phenolic compounds; phytogetic additive.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Capacidade antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	32
Tabela 2	- Composição polifenólica do extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	33
Tabela 3	- Composição e valor nutricional calculado da dieta controle.....	34
Tabela 4	- Desempenho de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	38
Tabela 5	- Qualidade interna e externa de ovos de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	39
Tabela 6	- Tabela 6 – Oxidação lipídica do soro sanguíneo, fígado e segmentos do órgão reprodutor de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	40
Tabela 7	- Capacidade antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	48
Tabela 8	- Composição polifenólica do extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	49
Tabela 9	- Composição e valor nutricional calculado da dieta controle.....	50
Tabela 10	- Qualidade de ovos frescos e armazenados de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	55
Tabela 11	- Fenólicos totais, Capacidade antioxidante (DPPH), Atividade antioxidante (ABTS) de ovos e Oxidação lipídica (TBARS) de gemas de ovos frescos e armazenados de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	56
Tabela 12	- Desdobramento da interação para fenólicos totais (mg EAG/100g de amostra) de ovos de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da <i>Syzygium cumini</i> L.....	57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	Formação das espécies reativas de oxigênio (EROS).....	14
2.2	Estresse oxidativo nas aves.....	15
2.3	Oxidação lipídica em ovos.....	16
2.4	Sistema de defesa antioxidante das aves.....	17
2.4.1	<i>Sistema enzimáticos.....</i>	18
2.4.2	<i>Sistemas não enzimáticos.....</i>	19
2.5	Antioxidantes exógenos utilizados na produção avícola.....	21
2.5.1	<i>Antioxidantes sintéticos.....</i>	21
2.5.2	<i>Antioxidantes naturais.....</i>	22
2.5.1.1	<i>Compostos fenólicos.....</i>	23
2.6	<i>Syzygium cumini L.....</i>	25
2.6.1	<i>Atividade antioxidante das folhas da Syzygium cumini L.....</i>	26
3	DESEMPENHO PRODUTIVO, QUALIDADE DOS OVOS E OXIDAÇÃO LIPÍDICA EM POEDEIRAS LEVES ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE <i>Syzygium cumini L.....</i>	28
3.1	Introdução.....	30
3.2	Material e métodos.....	31
3.2.1	<i>Aquisição das folhas e preparação do extrato.....</i>	31
3.2.2	<i>Determinação da capacidade antioxidante, atividade antioxidante total, fenólicos Totais e composição polifenólica do extrato etanólico das folhas da Syzygium cumini L.....</i>	32
3.2.3	<i>Experimento com aves.....</i>	33
3.2.4	<i>Avaliação do desempenho das aves.....</i>	34
3.2.5	<i>Avaliação da qualidade interna e externa dos ovos frescos.....</i>	35
3.2.6	<i>Oxidação lipídica do soro sanguíneo, fígado e órgãos reprodutores.....</i>	36
3.2.7	<i>Análise estatística.....</i>	37
3.3	Resultados e discussão.....	37
3.4	Conclusão.....	42

4	QUALIDADE DE OVOS FRESCOS E ARMAZENADOS DE POEDEIRAS LEVES ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE <i>Syzygium cumini</i> L.....	43
4.1	Introdução.....	46
4.2	Material e métodos.....	47
4.2.1	<i>Aquisição das folhas e preparação do extrato</i>	47
4.2.2	<i>Determinação da capacidade antioxidante, atividade antioxidante total, fenólicos totais e composição polifenólica do extrato etanólico das folhas da Syzygium cumini L</i>	48
4.2.3	<i>Experimento com aves</i>	49
4.2.4	<i>Avaliação da qualidade dos ovos frescos e armazenados</i>	50
4.2.5	<i>Oxidação lipídica da gema dos ovos frescos e armazenados</i>	52
4.2.6	<i>Determinação dos compostos fenólicos totais, capacidade e atividade antioxidante dos ovos frescos e armazenados</i>	52
4.2.7	<i>Análise estatística</i>	54
4.3	Resultados e discussão.....	54
4.4	Conclusão.....	62
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
	REFERÊNCIAS.....	64

1 INTRODUÇÃO GERAL

As espécies reativas de oxigênio (EROS) são moléculas produzidos naturalmente no organismo animal pelo processo oxidativo na cadeia transportadora de elétrons. Durante esse processo são formados intermediários reativos, como os radicais superóxido, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila. (FERREIRA & MATSUBARA, 1997). Porém, quando os animais são expostos a fatores estressantes, a produção excessiva dessas espécies acima dos níveis normais pode desencadear o estresse oxidativo.

O estresse oxidativo causada pelas EROS, promove dano celular ao organismo das aves prejudicando o desempenho produtivo, e promovendo a oxidação lipídica dos alimentos, entre eles o ovo, sendo considerada o principal fator de perda de qualidade das propriedades funcionais, pela formação de subprodutos primários e secundários que têm implicações no sabor, cor, e textura do alimento (HUANG & AHN, 2019).

Na produção animal com o objetivo de neutralizar os efeitos deletérios das EROS, são utilizados antioxidantes sintéticos nas rações, porém, nos últimos anos estudos têm demonstrado que esses compostos apresentam toxicidade aos seres humanos (FREITAS et al. 2013). Diante dessa problemática, o uso de antioxidantes de origem vegetal, tem recebido grande atenção devido ao amplo espectro de funções (LIPINSKI et al., 2017; ABDEL-MONEIM et al., 2020).

Os antioxidantes de origem vegetal são substâncias bioativas tais como compostos fenólicos, que fazem parte da constituição natural das plantas, e estão presentes em todas as partes, incluindo flores, folhas, raízes, sementes e frutos, e tem como funções atração de polinizadores e disseminadores de sementes, além de exercerem importante função na proteção contra estresses bióticos e abióticos (BORELLA et al., 2012; GONÇALVES et al., 2019).

A *Syzygium cumini* L., popularmente conhecida como azeitona preta, azeitona roxa, jambolão, jamelão, jambu e murta é uma planta pertencente à família das Mirtáceas (*Myrtaceae*) nativa de países como Índia, Tailândia, Filipinas e Madagascar. No Brasil, ela é cultivada em diversos estados das regiões sudeste, nordeste, norte e sul. A planta é rica em compostos fenólicos flavonoide (quercetina, isoquercetina, kaempferol, miricetina e antocianidinas) e não flavonoides (ácido elágico) em todas as suas partes (AYYANAR & SUBASH-BABU, 2012).

A presença desses compostos fenólicos implica diretamente na alta atividade antioxidante da planta. Freitas et al. (2017), trabalhando com a inclusão das folhas de *Syzygium cumini* L (0, 5 e 10 g/kg de ração) na dieta de galinhas poedeiras, observaram que os níveis 10

g/kg melhorou a estabilidade lipídica e a cor da gema de ovo, sem prejudicar o desempenho produtivo e a qualidade de ovos.

Sendo assim, a *Syzygium cumini* L tem demonstrado importante ação antioxidante. Diante disso, objetivou-se com esse trabalho avaliar o uso do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração de poedeiras leves sobre o desempenho produtivo, qualidade e estabilidade oxidativa de ovos, bem como oxidação lipídica do soro sanguíneo, fígado e segmentos do órgão reprodutor.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Formação das espécies reativas de oxigênio (EROS)

As espécies reativas de oxigênio (EROS) são produzidas naturalmente no organismo através de processos metabólicos oxidativos em que o oxigênio não sofre redução tetravalente ao longo da cadeia respiratória. Durante esse processo são formados intermediários reativos, como os radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($OH^{\cdot}$) (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

O radical superóxido é formado a partir da redução do O_2 com um elétron, sendo gerado nas mitocôndrias, microssomas e peroxissomas. É produzido em quase todas as células aeróbicas durante a ativação máxima dos neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos. Com vida média de milissegundos é uma molécula instável e, em razão disso, dificilmente atravessa membranas. Porém, apresenta meia vida mais longa do que o radical hidroxila, podendo reagir com as moléculas por mais tempo. Sua maior toxicidade está na capacidade de produzir outros radicais livres mais citotóxicos e reativos que ele próprio, pois em meio aquoso é instável e pode sofrer dismutação espontânea ou enzimática para produzir peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; SILVA & GONÇALVES, 2010).

A redução de dois elétrons de oxigênio ou a dismutação do radical superóxido determina a formação do peróxido de hidrogênio. Apesar de não ser considerado um radical livre verdadeiro, por não ter um elétron desemparelhado na sua última camada eletrônica, é uma espécie com alto potencial reativo. Assim, por participar da reação de geração de $OH^{\cdot}$, o peróxido de hidrogênio tem ação deletéria potencial, uma vez que esse se constitui o mais reativo dos radicais livres. Diferente dos radicais livres, o H_2O_2 tem vida longa e é capaz de atravessar as membranas celulares e reagir com metais de transição e algumas hemoproteínas, podendo ainda induzir alterações cromossômicas por romper a coluna do ácido desoxirribonucléico (DNA) (BARBOSA et al., 2010).

O radical hidroxila é o mais reativo e mais lesivo radical conhecido e para o qual, uma vez formado, o organismo animal não dispõe de mecanismo de defesa. O $OH^{\cdot}$ é formado pela fissão homóloga da ligação O-O da molécula de H_2O_2 , pela reação do H_2O_2 com o íon ferroso (Fe^{2+}), conhecida como reação de Fenton, ou pela interação do H_2O_2 com o radical superóxido, pela reação de Haber-Weiss (SILVA & GONÇALVES, 2010).

O $\text{OH}^{\bullet}$ pode causar lesões de forma direta ou indireta. As lesões diretas são produzidas sobre componentes celulares ou compostos orgânicos, dentre essas principais lesões podemos citar: lesão da membrana lipoprotéica e componentes celulares, pelo processo de peroxidação lipídica; alteração da permeabilidade vascular, com lesão de capilares; alteração da estrutura de proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos e carboidratos. Todas essas lesões requerem a presença de ferro. As lesões indiretas ocorrem devido a distúrbios de homeostase do cálcio intracelular, levando a um aumento do cálcio citossólico, com consequente ativação da xantina oxidase (RODRIGUES, 1998; VASCONCELOS et al.; 2007).

A geração das EROS constitui, por excelência, um processo contínuo e fisiológico, cumprindo funções biológicas relevantes. Porém, a produção excessiva pode conduzir ao estresse oxidativo ocasionando injúrias celulares devido a reações de óxido-redução com moléculas orgânicas, tais como fosfolipídios, proteínas e DNA. Essas injúrias podem acarretar perda da função celular e, consequentemente, disfunções importantes nos sistemas orgânicos (CAMPOS & LEME, 2017).

2.2 Estresse oxidativo nas aves

O termo estresse oxidativo é utilizado em circunstâncias nas quais o "desafio" pelas EROS resulta em dano tecidual ou na produção de compostos tóxicos ou danosos aos tecidos (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). A instalação do processo de estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de EROS ou em detrimento da velocidade de remoção desses. Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (BARBOSA et al., 2010).

Naturalmente as aves estão sujeitas a uma multiplicidade de fatores de estresse ao longo de seu tempo de vida. Tais fatores podem ser intrínsecos (ligados ao sistema imunológico do animal) ou extrínsecos (relacionados ao ambiente de criação e manejo). Estes fatores podem estimular a geração excessiva e contínua de EROS acima dos níveis normais do metabolismo celular que pode induzir, potencialmente, a lesão das estruturas celulares, aumentar a peroxidação lipídica, prejudicar o desempenho e dificultar a resposta imune do animal (YOUNG et al., 2003).

Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das EROS, porém a membrana é um dos mais atingidos em decorrência da peroxidação lipídica, que acarreta

alterações na sua estrutura e permeabilidade. O processo de peroxidação lipídica é iniciado pela reação de um radical livre com um ácido graxo insaturado e propagado por radicais peroxila, podendo ser definido como uma cascata de eventos bioquímicos. Resulta na formação de hidroperóxidos lipídicos e aldeídos, tais como o malondialdeído, 4-hidroxinonenal e isoprostanos, culminando na morte celular (BARBOSA et al., 2010; COTINGUIBA et al., 2013).

A lipoperoxidação é uma reação em cadeia, representada pelas etapas de iniciação, propagação e terminação. A reação inicia-se com o sequestro do hidrogênio do ácido graxo polinsaturado da membrana celular realizado pelo radical hidroxila, com consequente formação do $L\cdot$ (radical lipídico). Na primeira equação de propagação, o $L\cdot$ reage rapidamente com o O_2 , resultando em $LOO\cdot$ (radical peroxila), que, por sua vez, sequestra novo hidrogênio do ácido graxo polinsaturado, formando novamente o $L\cdot$ na segunda equação de propagação (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

O término da lipoperoxidação ocorre a interrupção das reações, causado pelo esgotamento de ácidos graxos insaturados ali presente, originando produtos secundários estáveis obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos. São gerados nessa fase produtos como alcoóis, aldeídos, cetonas, alcanos e o malonaldeído (MANCIO et al., 2011).

2.3 Oxidação lipídica em ovos

O ovo é conhecido como um dos alimentos mais completos, devido ao seu alto valor biológico, pois possui uma rica fonte de nutrientes, ou seja, um excelente balanço de gorduras, carboidratos, minerais e vitaminas, e principalmente proteínas. Porém, por ser um alimento de origem animal é altamente perecível, perdendo rapidamente sua qualidade quando armazenado em condições inadequadas de temperatura e umidade (GIAMPIETRO et al., 2008; SILVA et al., 2015).

A gema do ovo contém grande quantidade de lipídios, principalmente ácidos graxos insaturados e polinsaturado. Essa combinação favorece várias reações enzimáticas, entre as quais, a oxidação lipídica é a principal responsável para a perda do valor nutritivo, limitando sua capacidade de conservação e consequentemente reduzindo a vida de prateleira (GIAMPIETRO et al., 2008).

A oxidação lipídica ocorre como uma reação em cadeia e os ácidos graxos polinsaturado (PUFA) são mais susceptíveis, resultando na formação de produtos secundários produzidos no decurso da decomposição dos primários que desencadeiam alterações sensoriais,

além de mudanças nutricionais e descoloração nos alimentos. Dentre esses, um dos principais é o malonaldeído (MDA) (FELTES et al., 2010).

A oxidação lipídica pode ser avaliada através da determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) conhecido pelo método de TBARS. Esse método baseia-se na reação de uma molécula de MDA com o TBA, sob altas temperaturas, sendo medido por espectrofotometria a 532 nm de comprimento de onda, expressando a absorbância equivalente de MDA (g/kg ou µg) (NAIR & TURNER, 1984; LUNA et al., 2010).

Garcia et al., (2010), concluíram que o aumento do período de estocagem prejudica a qualidade dos ovos de poedeiras semipesadas jovens ou velhas, porém, esse efeito prejudicial é minimizado quando os ovos são mantidos sob refrigeração. Da mesma forma, Figueredo et al. (2011), observaram que ovos armazenados sob refrigeração apresentam melhor qualidade interna por maior período de tempo quando comparados com ovos armazenados em temperatura ambiente.

Investigando o efeito da temperatura (refrigerado e temperatura ambiente) durante o armazenamento dos ovos (0, 7, 14, 21 e 30 dias), Oliveira et al., (2015), constataram que os ovos mantidos sob refrigeração tiveram aumento significativo dos valores de TBARS aos 21 e 30 dias em relação a 0, 7 e 14 dias. Já nos ovos armazenados em temperatura ambiente, tiveram um aumento significativo nos valores médios de TBARS aos 14 e 21 dias em relação a 0 e 7 dias, sendo que, no último dia do armazenamento, o valor médio de TBARS aumentou significativamente em relação aos dias anteriores, ou seja, quando armazenados sob refrigeração os ovos conseguem manter por mais tempo sua qualidade.

Corroborando com esses resultados Akter et al., (2014), verificaram que os ovos armazenados em geladeira apresentaram menores valores de TBARS até 28 dias e em temperatura ambiente somente até 14 dias. Cimrin et al., (2019), também constataram menores valores médios de TBARS nas gemas de ovos mantidos a 4°C de refrigeração.

Como proteção aos efeitos nocivos do excesso de metabólitos de oxigênio, o organismo dos animais dispõe de sistemas defensivos, são os chamados sistemas de defesa antioxidantes, que atuam em diferentes níveis de proteção: inibindo a formação e ação oxidativa das EROS, e reparando as lesões provocadas pelos metabólitos oxidativos (CROCOMO et al., 2012).

2.4 Sistema de defesa antioxidante das aves

A exposição do organismo as EROS, provenientes de diversas fontes, levou as aves a desenvolverem uma série de mecanismos de defesa para eliminá-las de maneira benéfica, diminuindo a taxa de reação destas com a membrana lipídica, proteínas e DNA. Estas defesas foram a resposta da evolução à inevitabilidade da existência de radicais de oxigênio em condições de vida aeróbia. Estas defesas podem ser enzimáticas ou não enzimáticas, as quais são divididas em três níveis: prevenção da formação das EROS, eliminação das EROS formadas e reparo das moléculas modificadas por estas. (FERREIRA & ABREU; 2007; ALUWONG et al, 2013).

Dentre os níveis de adaptação, se destacam os mecanismos de eliminação das espécies reativas de oxigênio, que se dão por meio da atividade de enzimas antioxidantes e do envolvimento de agentes antioxidantes não enzimáticos, os quais tem como papel central a proteção dos alvos biológicos contra os potenciais danos oxidativos (RIBEIRO et al. 2005).

2.4.1 Sistema enzimáticos

As defesas antioxidantes enzimáticas são em grande números e encontram-se espalhadas por todo o organismo, tanto no meio intracelular como no meio extracelular. É o primeiro a agir, evitando o acúmulo de ânion radical superóxido e do peróxido de hidrogênio. É formado por diversas enzimas, destacando-se a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutathione peroxidase (GPH-Px), e a glutathione redutase (GPHR) (FERREIRA & ABREU, 2007).

Os sistemas enzimáticos ocorrem de três formas, o primeiro é composto por dois tipos de enzimas SOD, que catalisam a destruição do radical superóxido, convertendo-o em oxigênio e peróxido de hidrogênio. A decomposição radical superóxido ocorre naturalmente, porém, por ser uma reação de segunda ordem, necessita que ocorra colisão entre duas moléculas, de forma que há necessidade de maior concentração do ânion. A presença da enzima SOD favorece essa dismutação tornando a reação de primeira ordem, eliminando a necessidade da colisão entre as moléculas. A ação desta enzima permite a eliminação do radical superóxido mesmo em baixas concentrações. Existem duas formas de SOD no organismo, a primeira é dependente de Cu_2^+ e Zn_2^+ (CuZn-SOD) como centros redox e ocorre no citosol, sendo que sua atividade não é afetada pelo estresse oxidativo. A segunda contém Mn_2^+ (Mn-SOD) como centro redox, ocorre na mitocôndria e sua atividade aumenta com o estresse oxidativo (BARREIRO et al., 2006).

O segundo sistema de prevenção é muito mais simples, sendo formado pela enzima catalase (CAT), que atua na quebra do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Para manter sua atividade catalítica, a CAT necessita de Fe^{3+} como cofator e é dependente de NADPH. Esta enzima encontra-se em grandes concentrações nos peroxissomas, e em menor quantidade no citosol (IMAI & NAKAGAWA, 2003).

A CAT atua de forma complementar ao sistema de antioxidante das glutathionas, sendo mais eficiente que este, em altas concentrações de peróxido de hidrogênio, visto que em baixas concentrações a maior afinidade é a da glutathiona peroxidase (GSHPx) em virtude do menor valor de K_m para o peróxido de hidrogênio, fazendo com que a mesma possa atingir sua velocidade máxima em concentrações menores desse substrato (POWERS et al., 2009).

A glutathiona reduzida (GSH), possui papel central na defesa das células contra o estresse oxidativo, sendo um tripeptídeo encontrado intracelularmente em altas concentrações, essencialmente em todos os organismos aeróbicos. Sua capacidade redutora é determinada pelo grupamento -SH, presente na cisteína. A GSH atua como transportadora e reservatório da cisteína, onde participa da detoxificação de agentes químicos e da eliminação de produtos da lipoperoxidação. Ainda, é requerida para a síntese de DNA, de proteínas e de algumas prostaglandinas (HUBER et al., 2008)

O ciclo redutor da glutathiona é o principal mecanismo de remoção de hidroperóxidos, lipoperóxidos e, assim como a catalase, do peróxido de hidrogênio. Após exposição da GSH ao agente oxidante, ocorre sua oxidação a glutathiona oxidada (GSSG), pela ação da GSHPx, enzima que contém selênio em seu sítio ativo. A recuperação da GSH é feita pela enzima glutathiona redutase na presença de NADPH, uma etapa essencial para manter íntegro o sistema de proteção celular (HUBER et al., 2008).

2.4.2. Sistemas não enzimáticos

Os antioxidantes não enzimáticos desempenham um papel importante na proteção de macromoléculas contra possível dano oxidativo, principalmente no plasma que possui pouca atividade enzimática. Esses antioxidantes são compostos de baixo peso molecular, incluindo vitaminas A, C e E, diferentes minerais como selênio, zinco, cobre e manganês, compostos fenólicos. O sistema pode atuar em duas linhas distintas: como removedor do agente oxidante, antes que ele cause lesão, ou como reparador da lesão ocorrida. Com exceção da vitamina E, que é um antioxidante estrutural da membrana, a maior parte dos agentes antioxidantes encontra-se no meio intracelular (NORDBERG & ARNÉR, 2001; ANDRADE et al., 2010).

A vitamina E é constituída principalmente por quatro tocoferóis e secundariamente por quatro tocotrienóis, sendo o α -tocoferol o mais ativo. É uma vitamina lipossolúvel e normalmente armazenada a nível de membrana, entre os fosfolipídios, exercendo função antioxidante. Atua juntamente com a vitamina C e a glutatona dependente de selênio inibindo a peroxidação lipídica. Estas substâncias agem como doadores de hidrogênio para o radical peroxila, interrompendo a reação em cadeia da peroxidação lipídica. Cada tocoferol pode reagir com até dois radicais peroxila e, nesse caso, o tocoferol é irreversivelmente desativado. Para que eles não se desativem, necessitam do mecanismo de regeneração sinérgico com o ascorbato nas membranas celulares e com a ubiquinona na membrana mitocondrial (OLIVEIRA, 2000).

A vitamina E pode ser facilmente transferida para a gema de ovos, Grobas et al. (2002) mostraram relação linear positiva entre a suplementação de dl- α -acetato de tocoferil na ração ofertadas e a concentração de α -tocoferol na gema de ovos de poedeiras. Da mesma forma, Bölükbaşı et al. (2007) verificaram que a suplementação de vitamina E provocou aumento na deposição de α -tocoferol na gema de ovos de poedeiras expostas a estresse térmico, inibindo a reação em cadeia da oxidação na gema.

A vitamina C ou ácido ascórbico é um antioxidante solúvel em água, localizado nos compartimentos aquosos dos tecidos orgânicos. Desempenha papéis metabólicos fundamentais no organismo, atuando como agente redutor, reduzindo metais de transição (em particular Fe^{3+} e Cu^{2+}) presentes nos sítios ativos das enzimas ou nas formas livres no organismo. Por ser um bom agente redutor, o ácido ascórbico pode ser oxidado pela maioria das EROS, de tal forma que, a suplementação deste, mostra efeito positivo na redução do estresse fisiológico causado pela rápida taxa de crescimento e pelas condições ambientais da produção avícola (HALIWELL et al., 1996).

El-Senousey et al. (2018) observaram que a injeção in ovo de 3mg/ovo de ácido ascórbico reduziu os níveis de expressão de genes relacionados ao sistema imunológico, associando essa resposta à capacidade antioxidante da vitamina para eliminar a produção excessiva das EROS.

A vitamina A é um antioxidante muito eficaz e pode retardar o processo de peroxidação lipídica. Sua atividade, entretanto, depende da pressão parcial de O_2 , sendo mais eficiente a baixas concentrações deste. Altos níveis de oxigênio levam a destruição dos carotenoides que são precursores da vitamina A (FOOTE, 1970).

Segundo Ahmad et al. (2019), a suplementação dietética de vitamina A acima das recomendações pode aumentar a conteúdo desta vitamina nos ovos e desta forma reduzir a

deterioração da qualidade destes devido à oxidação lipídica durante o armazenamento. Outro ponto positivo, é a restauração da atividade normal de órgãos reprodutores em galinhas poedeiras criadas em temperatura ambiente mais alta.

Outra linha de defesa antioxidante encontrada no organismo são os oligoelementos. O selênio (Se) é um micronutriente essencial presente em quantidades variáveis, em quase todos os alimentos da dieta animal. Esse elemento atua associado às selenoproteínas, muitas das quais são enzimas antioxidantes que protegem o organismo contra a ação das EROS, sendo a principal delas é a glutathione peroxidase (SILVA & GONÇALVES, 2010).

O zinco, cobre e manganês são oligoelementos essenciais que funciona em várias vias metabólicas. Suas principais funções em relação ao sistema de defesa antioxidante são suas participações como cofatores enzimáticos no centro redox da enzima superóxido dismutase que ocorre no citosol e na mitocôndria celular (BARBOSA et al., 2010).

2.5 Antioxidantes exógenos utilizados na produção avícola

Atualmente, existe uma grande quantidade de compostos, tanto naturais quanto sintéticos, com propriedades antioxidantes utilizadas na alimentação animal, embora para seu uso, devem cumprir certos requerimentos, sendo um deles a segurança para a saúde animal e humana (NAWAR, 1996).

Segundo Melo & Guerra (2002), as substâncias antioxidantes exógenas devem atender os seguintes requisitos: serem efetivos durante o período de armazenamento, não conferirem odor ou sabor ao alimento, serem compatíveis com o substrato, serem estáveis ao processo de aquecimento e serem facilmente incorporados ao alimento.

Estes são descritos, segundo seu mecanismo de ação, como aditivos que reagem com as EROS, formando produtos inativos ou quanto à sua presença em alimentos, como qualquer substância capaz de retardar os efeitos deletérios da oxidação ao organismo e aos alimentos. Estas substâncias podem ser produzidas sinteticamente pela indústria ou encontradas de forma natural nas plantas presentes na natureza (GARCIA et al., 2012).

2.5.1 Antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes sintéticos são usados como aditivos alimentares para prevenir ou retardar a oxidação lipídica. Desses antioxidantes sintéticos os mais utilizados pela indústria

brasileira são o butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), galato de propila ou propil galato (PG) e terc-butil hidroquinona (TBHQ) (TAKEMOTO et al, 2009).

A utilização desses antioxidantes na alimentação humana e animal teve início no final da década 40, a partir da utilização de BHA desenvolvido para proteção de petróleo, com ação eficaz como antioxidante em alimentos gordurosos. Em meados de 1954, teve início ampla utilização do BHT nos Estados Unidos, juntamente com os antioxidantes alimentares anteriormente disponíveis, como BHA e o propil galato. Já em 1972, deu-se início à comercialização do TBHQ como um antioxidante de qualidade na alimentação (MAZIERO et al., 2001; NIEVA-ECHEVARRÍA et al., 2015).

Estes antioxidantes são compostos poli-hidroxilados e fenóis com várias substituições no anel. São chamados de antioxidantes primários, pois atuam na etapa da iniciação da oxidação lipídica, bloqueando a ação das EROS, convertendo-as em produtos estáveis por meio da doação de hidrogênio ou elétrons. A eficácia de um antioxidante está relacionada com muitos fatores, como a energia de ativação, as constantes de velocidade, o potencial de óxido-redução, a facilidade com a qual pode-se destruir ou perder o antioxidante e a sua solubilidade (CONEGLIAN et al., 2011),

Apesar dos benefícios propiciados pelos antioxidantes sintéticos na indústria da alimentação e nutrição animal, estudos toxicológicos com essas substâncias têm demonstrado que elas apresentam alto potencial carcinogênicos, provocam males devido ao aumento do peso do fígado, redução do nível de hemoglobina, hiperplasia de células basais, além de serem tóxicos dependendo da quantidade utilizada (RAMALHO & JORGE, 2006).

Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos na alimentação animal, pesquisas têm sido dirigidas no sentido de utilização de antioxidantes naturais. Sendo estes, uma alternativa promissora e economicamente mais viável, podendo proporcionar possíveis benefícios à saúde dos consumidores, devido aos efeitos funcionais de seus compostos bioativos (HUBER et al., 2012).

2.5.2 Antioxidantes naturais

Devido a comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de BHT, BHA e TBHQ, no final da década de 80, surgiu o interesse pelos antioxidantes de fontes naturais, que pudessem atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e principalmente limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (POKORNÝ, 1991; DURÁN & PADILLA, 1993).

Os antioxidantes naturais são classificados como compostos bioativos provenientes de diferentes partes das plantas, tais como, folhas, cascas, raízes, sementes e ou/ frutos. Já foram identificados mais de 5000 compostos bioativos, no entanto, uma grande percentagem destes compostos é ainda desconhecida, sendo importante a sua identificação para melhor compreender a sua contribuição para a saúde humana e animal (FERREIRA & ABREU, 2007). Os antioxidantes naturais são compostos aromáticos que contêm pelo menos uma hidroxila. Funcionam como agentes inibidores das EROS, como quelantes ou sequestrantes do oxigênio singlete e como desativadores de metais pró-oxidantes (MELO e GUERRA, 2002).

Os compostos bioativos presentes nos antioxidantes naturais englobam carotenoides: (α - caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina, cataxantina e licopeno); compostos fenólicos: flavonóides (flavonóis, flavonas, flavanóis, flavanonas, antocianidinas e isoflavonóides), estibenos, cumarinas e taninos, e não flavonóides ou ácidos fenólicos: (ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos); alcalóides; compostos azotados: (derivados da clorofila, aminoácidos e aminas) e compostos organossulfurados: (isotiocianatos, indoles, compostos de enxofre alílicos). Porém, os compostos bioativos mais estudados são os compostos fenólicos (FERREIRA & ABREU, 2007).

2.5.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização. Caracterizam-se pela presença de pelo menos um grupo hidroxila ligada diretamente a um anel aromático. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a glicosídeos e proteínas (SOARES, 2002).

Os compostos fenólicos funcionam como sequestradores das EROS e quelantes de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Sua capacidade antioxidante é determinada pela sua estrutura, em particular por hidroxilas que podem doar elétrons e suportar como resultado a deslocalização em torno do sistema aromático. Os produtos intermediários, formados pela ação destes compostos, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentadas por estas substâncias (SHAHIDI et al., 1992; SOARES, 2002).

Este grupo de compostos bioativos são divididos em classes, de acordo com o seu esqueleto carbônico, onde as principais são a dos ácidos fenólicos e a dos flavonóides. Os ácidos fenólicos ou não flavonóides caracterizam-se pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metila. São divididos em

três grupos, ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos e cumarinas. Os ácidos benzóicos possuem sete átomos de carbono, sendo os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza. O segundo grupo é formado pelos ácidos cinâmicos que possuem nove átomos de carbono. O último grupo são as cumarinas, derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido α -cumárico (SOARES, 2002).

Já os flavonóides somam mais de 10.000 identificados na natureza, sendo os metabólicos secundários mais diversificados do reino vegetal. Possui a estrutura básica formada por 15 carbonos (C₁₅) arranjados em três anéis consistindo de dois anéis aromáticos ligados por um heterocíclico oxigenado. São subdivididos em classes, flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavanas, antocianinas e isoflavonóides (CAROCHO & FERREIRA, 2013).

A diversidade estrutural dos flavonóides é explicada ao nível de oxidação e às variações sofridas no esqueleto carbônico básico tais como: hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, o que lhes confere uma grande capacidade antioxidante (LOPES et al., 2010). Essa capacidade antioxidante depende das propriedades redox de seus grupos hidroxifenólicos e da relação estrutural entre as diferentes partes da estrutura química. (MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002).

Além de sequestradores das EROS e quelantes de metais de transição, os flavonóides, apresentam outras propriedades antioxidantes como: inibição de oxidases entre elas a lipoxigenase, ciclooxygenase, mieloperoxidase e xantina oxidase, e estimulação de enzimas com propriedade antioxidantes como a catalase e superóxido dismutase. Extratos obtidos de fontes naturais, como o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (AFONSO et al., 2010), sálvia (*Salvia officinalis* L.) (ESTEVEZ et al., 2007), chá verde (PERUMALLA & NAVAM, 2011), orégano (*Origanum vulgare*) (BOTSOGLU et al., 2002), provaram possuir forte atividade antioxidante, devido ao elevado teor de compostos fenólicos.

Por conter grandes quantidades de ácidos graxos insaturados e polinsaturado as gemas dos ovos, são mais susceptíveis ao processo de oxidação lipídica e isso limita a capacidade de conservação (PITA et al., 2004). Yesilbag et al., (2013), observaram um aumento na estabilidade lipídica de ovos armazenados, quando incluíram extrato de óleo de orégano nas rações de poedeiras.

A presença destes compostos bioativos em plantas vem sendo bastante estudada, ainda assim no Brasil, existe um déficit entre a diversidade da flora e a quantidade de pesquisa desenvolvida, o que determina um elevado potencial de estudo nessa área. Dentre as várias espécies de plantas, pesquisas tem demonstrado que a azeitona roxa (*Syzygium cumini* L) apresenta um grande potencial antioxidante (CHAGAS et al., 2015).

2.6 *Syzygium cumini* L

A *Syzygium cumini* L, popularmente conhecida como: jambolão, cereja, jamelão, jalão, jambu, azeitona-do-nordeste, murta, ameixa roxa e azeitona preta. É uma planta pertencente à família das Mirtáceas (Myrtaceae), compreendendo mais de 4.620 espécies distribuídas em 129 gêneros. Originária da Índia e amplamente distribuída em países asiáticos como Malásia, Tailândia e Filipinas. A planta foi introduzida em muitos países no Continente africano e na América Latina onde se adaptou facilmente ao clima tropical e subtropical. No Brasil, pode ser encontrada em diversos estados das regiões sul, sudeste, norte e nordeste (SOUSA SABINO et al., 2018).

É considerada uma espécie arbórea, atingindo 15 m de altura e 4 m de diâmetro de copa. As folhas são verdes escuras, lisas, brilhantes e em forma alongada ou oblonga. As flores são pequenas, numerosas, nas cores brancas ou esverdeadas e os frutos são comestíveis e apresentam um sabor adstringente, possuem forma elítica composta por uma única semente e podem ser encontrados na copa da árvore (BALIGA et al., 2011; AYYANAR & SUBASH-BABU, 2012; SOUSA SABINO et al., 2018).

A *Syzygium cumini* L é conhecida por possuir diversos fitoquímicos, sendo a maioria considerados benéficos para a saúde. As folhas, frutos, semente e casca são utilizadas pela população, principalmente no tratamento do diabetes, resfriado, tosse, úlceras e também anti-inflamatória e antibacteriana. Administrados na forma de diferentes preparos como extrato aquoso, extrato etanólico, suco e chá das folhas (PEPATO et al., 2001).

A planta é rica em compostos fenólicos flavonóides e não flavonóides como: antocianinas, ácido elágico, isoquercetina, caemferol e mirecetina. As sementes por sua vez, contêm alcalóides, jambosina, glicosídeo jambolina e diferentes flavonóides, lhes conferindo uma alta ação antioxidante. Além disso, são bastante ricas em proteínas e cálcio. Os frutos são ricos em rafinose, glicose, frutose, ácido cítrico, ácido maleico, ácido gálico (responsável pelo azedume dos frutos), antocianinas (responsável pela cor roxa dos frutos). Também contém proteínas, minerais como: cálcio, fósforo, magnésio, ferro, sódio, potássio, cobre e cloro e vitaminas A, C e as do complexo B (AYYANAR & SUBASH-BABU, 2012).

Já suas folhas possuem glicosídeos acilados, compostos fenólicos: quercetina, mirecetina, miricitina, Miricetina 3-O-(4'' acetil) - α -L-ramnopiranosídeo, ácido gálico, ácido elágico, ácido clorogênico, metilgalato, camferol, triterpenóides e taninos (AYYANAR & SUBASH-BABU, 2012; SWAMI et al., 2012).

Quando comparando a concentração de compostos fenólicos do extrato das folhas e dos extratos de diferentes estágios de maturação do fruto da *Syzygium cumini* L, Veber et al., (2015) observaram que o extrato das folhas apresentou maior presença de compostos fenólicos quando comparado com os demais extratos. Corroborando com estes resultados, Kaneria & Chanda et al. (2013) também constataram que o extrato das folhas da planta apresentou uma alta atividade antioxidante e antimicrobiana. Estes resultados indicam que as folhas da *Syzygium cumini* L pode se tornar uma importante fonte de antioxidante natural.

2.6.1 Atividade antioxidante das folhas da *Syzygium cumini* L

As folhas da *Syzygium cumini* L apresentam várias atividades biológicas e estas atividades tem sido demonstradas por grupos de pesquisa, dentre essas ações foram identificadas funções farmacológicas como antiinflamatória, atividade antibacteriana contra bactérias como *Salmonella typhimurium* e *Pseudomonas aeruginosa* (LOGUERCIO et al, 2005) e antioxidante (KANERIA & CHANDA et al. 2013).

A ação antioxidante das folhas é em razão da variedade de compostos fenólicos, sendo que estes, constituem um dos principais grupos responsáveis pela eliminação das EROS. Hasanuzzaman et al., (2016), trabalhando com os extratos das folhas da de *S. cumini* em diferentes solventes (n-hexano, acetona, clorofórmio e metanol), denotaram a presença de fitoquímicos como alcalóides, flavonóides, glicosídeos, fenol, resinas, saponinas, taninos e esteróides.

Ramos & Bandiola (2017), também avaliando a constituição fitoquímica de extratos das folhas com diferentes solventes (água, etanol, metanol, etil acetato e hexano), observaram que os extratos etanólico e metanólico continham a maior parte dos fitoquímicos e também incluíam: alcalóides, flavonóides, saponinas, taninos, glicosídeos, fenóis, proteínas, triterpenóides, esteróides, óleos e gorduras.

Balyan et al., (2019), encontraram um total de dez compostos fenólicos, incluindo seis ácidos fenólicos (ácido tânico, ácido gálico, ácido elágico, ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido p-cumárico) e quatro flavonóides (catequina, epicatequina, quercetina e miricetina 3-O-ramnosídeo) no extrato purificado da folha da *S. cumini* L.

Segundo Kharat et al., (2020), o extrato da folha da planta apresentou quatro tipos de compostos fenólicos: quercetina, rutina, ácido elágico e kaempferol. Dos cinco solventes usados (água, etanol, metanol, acetato de etila e clorofórmio), o extrato etanólico indicou a maior quantidade de quercetina ($0,19394 \pm 0,05 \mu\text{g} / \text{ml}$), o extrato aquoso maior quantidade de

rutina ($0,04731 \pm 0,05\mu\text{g} / \text{ml}$), enquanto o extrato de acetato de etila exibiu o maior conteúdo para ácido elágico ($0,02492 \pm 0,03\mu\text{g} / \text{ml}$) e kaempferol ($0,02521 \pm 0,05\mu\text{g} / \text{ml}$).

Já Kaneria et al. (2009), encontraram 180 e 94 mg/g de compostos fenólicos total nos extratos metanólico e aquoso das folhas de *S. cumini* L respectivamente, usando o método de Folin-Ciocalteu e o ácido gálico como padrão. Jacques & Zambiasi (2011), observaram que o ácido gálico apresentou uma das maiores taxas de degradação dentre os compostos fenólicos individuais. Essa resposta é associada à sua estrutura altamente hidroxilada, que favorece maior disponibilidade para reações de oxirredução.

A atividade antioxidante das folhas da *S. cumini* L, vem sendo investigadas experimentalmente através de estudos *in vitro* e *in vivo*. Ruan et al., (2008), verificaram relação linear significativa entre o potencial antioxidante, capacidade de eliminação das EROS e o conteúdo de compostos fenólicos de extratos das folhas. Os autores identificaram compostos fenólicos como o ácido ferúlico e catequina. Esta última é um flavonoide monomérico, que contém hidroxila e peroxila e apresenta alta atividade de eliminação dos radicais (MOREL et al., 1993).

Outros trabalhos também verificaram atividade antioxidante *in vitro* da folha da *S. cumini* L, Jagetia & Baliga, (2004), Kshirsagar & Upadhyay, (2009), Nahar et al., (2009), Reddy & Jose, 2013, Eshwarappa et al., 2014, Margaret et al., 2015, Kumar & Kalakoti, 2015.

Nas pesquisas *in vivo*, Bona et al., (2010) observaram que o extrato etanólico das folhas reduziu consideravelmente os valores de TBARS em plaquetas de pacientes diabéticos. Conforme os autores, essa resultância pode ser devido à presença de compostos fenólicos encontrados no extrato como o ácido gálico, ácido clorogênico e a rutina, posto que, esses compostos são tidos por serem antioxidantes.

Quando referindo aos animais de produção, poucos trabalhos tem sido desenvolvido com o uso da planta. No entanto, Freitas et al., (2017), trabalhando com a inclusão das folhas secas e trituradas (0, 5 e 10 g/kg) na dieta de galinhas poedeiras, observaram que os níveis 10 g/kg melhorou a estabilidade lipídica e a cor da gema dos ovos, sem prejudicar o desempenho e a qualidade dos ovos.

A presença de compostos fenólicos, flavonoides e não flavonoides especialmente nos extratos de folhas da *Syzygium cumini* L e sua atividade antiedematogênica justificam o uso de extratos como um potente antioxidante natural (VEBER et al., 2015).

3 DESEMPENHO PRODUTIVO, QUALIDADE DOS OVOS E OXIDAÇÃO LIPÍDICA EM POEDEIRAS LEVES ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE *Syzygium cumini* L

RESUMO

A *Syzygium cumini* L popularmente conhecida como azeitona preta, azeitona roxa, jambolão, jamelão apresenta importante compostos fenólicos que atuam capturando radicais livres e protegendo as células dos danos oxidativos. Objetivou-se avaliar o efeito do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L sobre o desempenho produtivo, qualidade de ovos e oxidação lipídica de poedeiras leves. Foram utilizadas 336 poedeiras Lohmann LS - Lite com 31 semanas de idade, em um delineamento inteiramente casualizado composto por sete tratamentos e seis repetições de oito aves cada. Os tratamentos aplicados foram constituídos por rações, sendo duas rações controle, negativo (sem adição de antioxidante) e positivo (com adição de 200 mg/kg de ração do antioxidante sintético BHT) e cinco rações com a inclusão dos níveis de 200, 400, 600, 800, e 1000 mg/kg de ração do extrato etanólico da folha *Syzygium cumini* L. Foram avaliadas o desempenho produtivo das poedeiras, a qualidade interna e externa dos ovos e a oxidação lipídica do soro sanguíneo, fígado e segmentos do órgão reprodutor pela análise de Tbars. Não houve efeito significativo sobre os parâmetros de desempenho, qualidade dos ovos e oxidação lipídica do sangue, fígado e segmentos do órgão reprodutor. Na análise de regressão observou-se efeito linear positivo para o consumo de ração. A inclusão de até 1000 mg/kg de extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração não apresenta efeito adverso sobre o desempenho produtivo e a qualidade de ovos e bem como não afeta a oxidação lipídica no sangue, fígado e segmentos do órgão reprodutor de poedeiras leves com idade de 31 a 49 semanas.

Palavras-chaves: aditivo fitogênico; antioxidante; compostos fenólicos; peroxidação lipídica.

ABSTRACT

Syzygium cumini L. popularly known as black olive, purple olive, jambolan, jamelon has important phenolic compounds that act by capturing free radicals and protecting cells from oxidative damage. The objective was to evaluate the effect of the ethanolic extract of the leaf of *Syzygium cumini* L on the productive performance, egg quality and lipid oxidation of laying hens. A total of 336 31-week-old Lohmann LS - Lite laying hens were used in a completely randomized design consisting of seven treatments and six replicates of eight birds each. The applied treatments were constituted by rations, being two control rations, negative (without addition of antioxidant) and positive (with addition of 200 mg/kg of ration of the synthetic antioxidant BHT) and five rations with the inclusion of the levels of 200, 400, 600, 800, and 1000 mg/kg of ethanolic extract of the leaf *Syzygium cumini* L. The productive performance of laying hens, the internal and external quality of the eggs and the lipid oxidation of the blood serum, liver and segments of the reproductive organ were evaluated by TB analysis. There was no significant effect on performance parameters, egg quality and lipid oxidation of blood, liver and reproductive organ segments. In the regression analysis, a positive linear effect was observed for feed intake. The inclusion of up to 1000 mg/kg of ethanolic extract of the leaf of *Syzygium cumini* L in the feed does not have an adverse effect on the productive performance and the quality of the eggs, nor does it affect the lipid oxidation in the blood, liver and segments of the reproductive organ of light laying hens aged 31 to 49 weeks.

Keywords: antioxidant; lipid peroxidation; phenolic compounds; phytogetic additive.

3.1 Introdução

As aves de postura estão sujeitas a uma multiplicidade de fatores de estresse ao longo da vida que podem ser intrínsecos aos organismos das aves, como status imunológico, idade e estado fisiológico, e extrínseco associados a infraestrutura de alojamento e condições ambientais, manejo e nutrição (SURAI & FISININ, 2016a; SURAI & FISININ, 2016b). Esses fatores podem estimular a geração de espécies reativas ao oxigênio (EROS) acima dos níveis normais do metabolismo celular que pode induzir, potencialmente, a lesão das estruturas celulares, aumentar a peroxidação lipídica, prejudicar o desempenho e dificultar a resposta imune do animal (YOUNG et al., 2003).

Para neutralizar os efeitos deletérios das EROS, são utilizados antioxidantes sintéticos na ração animal, que retardam ou inibem processos oxidativos no alimento e no organismo animal por meio de propriedades químicas que permite o sequestro de EROS, mitigando o estabelecimento do quadro de estresse oxidativo e consequentemente preservando a saúde animal, auxiliando o sistema imunológico e aumentando a eficiência produtiva do animal. Os antioxidantes sintéticos comumente usados são hidroxianisole butilado (BHA) e butilado hidroxitolueno (BHT), galato de propila (PG) e o terc-butilhidroquinona (TBHQ). No entanto, estudos têm demonstrado que esses compostos podem apresentar toxicidade, podendo ser carcinogênico para os seres humanos (FREITAS et al. 2013).

Com isso, nos últimos anos pesquisas tem-se voltado ao uso de plantas medicinais como antioxidantes naturais, pois estas possuem substâncias bioativas que fazem parte da constituição das plantas que atuam capturando radicais livres e protegendo as células dos danos oxidativos, onde a sua quantidade é diretamente proporcional à eficiência da atividade antioxidante (VEBER et al., 2015; ABDEL-MONEIM et al., 2020; BATIHA et al., 2020).

Dentre os antioxidantes presentes nas plantas os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, que além de influenciar as funções fisiológicas, podem ajudar a manter uma boa saúde e também melhora o desempenho, ao mesmo tempo, são menos prejudiciais, têm menos efeitos colaterais do que os produtos sintéticos e podem ser incorporados na ração ou na água das aves (ABDEL-MONEIM et al., 2020; BATIHA et al., 2020; TORKI et al., 2021).

Popularmente conhecida como azeitona preta, azeitona roxa, jambolão, jamelão, jambu e murta, a *Syzygium cumini* L, é uma planta pertencente à família das Mirtáceas (*Myrtaceae*), originária da Índia, e hoje cultivada em todo o território do Brasil. A planta é rica em polifenóis flavonoides como; antocianidinas, glicosídeos, isoquercetina, kaempferol, e

miricetina, assim como ácidos fenólicos à exemplo do ácido elágico em todas as suas partes (folhas, sementes, frutos e casca). As folhas possuem principalmente na sua composição flavonoides glicosídeos e flavonóis glicosídeos acilados, taninos e ácido elágico (AYYANAR & SUBASH-BABU, 2012; VEBER et al., 2015; AYYANAR et al., 2013).

A atividade antioxidante *in vitro* de diferentes extratos das folhas de *Syzygium cumini* L foi relatada por diferentes pesquisadores (RUAN et al., 2008; KANERIA & CHANDA 2013; REDDY & JOSE 2013; SIDDIQUE et al. 2013). Já em relação a utilização *in vivo*, Freitas et al., (2017), trabalhando com a inclusão das folhas de *Syzygium cumini* L (0, 5 e 10 g/kg de ração) para galinhas poedeiras, observaram que os níveis 10 g/kg de ração melhorou a estabilidade lipídica e a cor da gema de ovo, sem prejudicar o desempenho, a qualidade do albúmen e da casca do ovo.

Dessa forma, a utilização da *Syzygium cumini* L tem demonstrado uma importante ação antioxidante. Diante do exposto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a utilização do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração de postura sobre o desempenho produtivo, qualidade de ovos e oxidação lipídica no organismo das aves.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Aquisição das folhas e preparação do extrato

As folhas da azeitona roxa (*Syzygium cumini* L) foram colhidas de julho-agosto de 2019, na Universidade Federal do Ceará. O material foi seco ao sol sobre uma lona plástica por 72 horas. Depois de secas as folhas foram trituradas.

A preparação do extrato etanólico da folha foi realizada no Laboratório de Extração de Produtos Naturais - localizado nas instalações do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo método de extração a frio utilizando o solvente orgânico etanol.

Inicialmente, o material triturado foi colocado em recipientes de vidro onde permaneceu submerso em etanol por um período de sete dias a temperatura ambiente. Em seguida, o material foi filtrado com ajuda de TNT (tecido não tecido) e submetido à evaporação em evaporador rotativo (Evaporador Rotativo TE – 210®, Tecnal, Piracicaba, Brasil), a 50°C, rotação de 60 rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente e obtenção do extrato etanólico. O solvente recuperado foi utilizado para re-extração por mais uma vez com as

mesmas condições da extração inicial. O extrato etanólico obtido foi acondicionado em recipiente de vidro e identificado para posterior utilização.

3.2.2 Determinação da capacidade antioxidante, atividade antioxidante total, fenólicos Totais e composição polifenólica do extrato etanólico das folhas da *Syzygium cumini* L

Foram retiradas alíquotas do extrato para avaliação da capacidade antioxidante, atividade antioxidante total, determinação de compostos fenólicos totais e composição polifenólica, onde o butilato de hidroxitolueno (BHT) foi utilizado como padrão.

A capacidade antioxidante do extrato foi avaliada pela capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil), de acordo com o procedimento descrito por Brand-Williams et al. (1995) e Rufino et al. (2007), sendo os resultados expressos em $\mu\text{g/mL}$, referente à metade da concentração inibitória máxima (IC₅₀). A atividade antioxidante total (AAT) foi determinada por meio de ensaio com o radical livre ABTS⁺ (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) e o resultado expresso em μM de capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) por g de extrato (MILLER et al., 1993). E a análise dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu, expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EqAG) por g de extrato (FOLIN & CIOCALTEAU, 1927; MUELLER-HARVEY, 2001) (Tabela 1).

Tabela 1- Capacidade antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L

Antioxidantes	DPPH ¹ IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	ABTS ² (μM TEAC/g)	Fenólicos totais (mg EqAG/g)
BHT ³	20,05	350,83	
EEFAR ⁴	21,00	295,51	99,40

¹ Radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil; ² Radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); ³ Butilado hidroxitolueno; ⁴ Extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L.

A quantificação da composição polifenólica foi feita por HPLC, conduzido em um HPLC Agilent 1100, acoplado a um único detector quadrupolo seletivo de massa (HP 1101; Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha). A separação cromatográfica de extratos metanólicos foi conduzido usando uma coluna de fase reversa C18 Gemini (5 μm) (250 x 4,6 mm I.D.) Phenomenex (Aschaffenburg, Alemanha) de acordo com o método descrito por Maia et al. (2018). Os resultados foram expressos em mg/g de extrato (Tabela 2).

Tabela 2- Composição polifenólica do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L

Compostos fenólicos	mg/g
Quercetina-3-O-galactoside	5,22
Isorhamnetina-3-O-rutinoside	6,21
Ácido elágico	4,09

3.2.3 Experimento com aves

Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – UFC), localizado em Fortaleza, Brasil, sob números 5328300919, os quais estão de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura da UFC em um galpão convencional para criação de poedeiras alojadas em gaiolas de arame galvanizado (25 x 40 x 45 cm) com capacidade para 2 aves por gaiola dotadas de comedouro calha e bebedouro niple.

Foram utilizadas 336 poedeiras leves da linhagem Lohmann LS - Lite com 31 semanas de idade, peso médio de 1,491 kg e produção de ovos de 96%. As aves foram selecionadas, com base no peso e produção de ovos, sendo distribuídas uniformemente nas unidades experimentais, de modo que todas as repetições tivessem aves com pesos e produção de ovos similares, conforme recomendações de Sakomura & Rostagno (2007).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e seis repetições de oito aves cada. Os tratamentos aplicados foram constituídos por rações, sendo duas rações controle, negativo (sem adição de antioxidante) e positivo (adição de BHT) e cinco rações com a inclusão dos níveis de 200, 400, 600, 800, e 1000 mg/kg de ração do extrato etanólico da folha *Syzygium cumini* L.

A ração controle negativo (Tabela 3) foi formulada de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo manual da linhagem e considerados os valores de composição nutricional e energética dos ingredientes apresentados por Rostagno et al. (2017) com a utilização de um ingrediente inerte (areia lavada) na concentração de 1%. As demais rações foram obtidas pela substituição do inerte pelo BHT, para o tratamento controle positivo, e do inerte pelo extrato etanólico da folha *Syzygium cumini* L. de acordo com o nível proposto para cada tratamento, para que todas as rações fossem isonutrientes e isoenergéticas.

O período experimental foi de 126 dias divididos em 6 períodos com duração de 21 dias cada. O programa de luz utilizado foi de 16 horas de luz por dia, sendo 12 horas de luz

natural e 4 horas de luz artificial. Durante o período experimental, os dados de temperatura e de umidade relativa média do ar foram registrados por Dataloguer (HOB0®, Bourne, Estados Unidos), sendo as médias de temperatura e umidade relativa do ar no galpão, durante o período experimental de 28,75°C e 63,55%, respectivamente.

Tabela 3- Composição e valor nutricional calculado da dieta controle

Ingredientes	%
Milho	58,97
Farelo de soja	28,16
Calcário calcítico	9,18
Fosfato bicálcico	1,63
Óleo de soja	1,30
Sal comum	0,38
DL-Metionina	0,11
Suplemento vitamínico ¹	0,10
Suplemento mineral ²	0,05
Inerte	0,10
Total	100,00
Composição calculada de energia e nutrientes	
Energia metabolizável, kcal/kg	2.750
Proteína bruta, %	17,00
Cálcio, %	3,90
Fosforo disponível, %	0,40
Sódio, %	0,17
Metionina dig. %	0,35
Metionina + cistina dig. %	0,60
Lisina dig. %	0,83
Treonina dig. %	0,60
Triptofano dig. %	0,19

¹ Composição por kg de produto: Vit. A – 9.000.000,00 UI; Vit. D3 – 2.500.000,00 UI; Vit. E – 20.000,00 mg; Vit. K3 – 2.500,00 mg; Vit. B1 – 2.000,00 mg; Vit. B2 – 6.000,00 mg; Vit. B12 – 15,00 mg; Niacina – 35.000,00 mg; Ácido pantotênico – 12.000,00 mg; Vit. B6 – 8.000,00 mg; Ácido fólico – 1.500,00 mg; Selênio – 250,00 mg; Biotina – 100,00 mg. ² Composição por Kg do produto: Ferro – 100.000,00 mg; Cobre – 20,00 g; Manganês – 130.000,00 mg; Zinco – 130.000,10 mg; Iodo – 2.000,00 mg.

3.2.4 Avaliação do desempenho das aves

Na avaliação do desempenho das aves as variáveis analisadas foram: consumo de ração (g/ave/dia), calculada pela diferença da quantidade de ração fornecida no início e final de cada fase, sendo descontadas as sobras; produção de ovos (%/ave/dia) obtida através do registro diário da produção de ovos por gaiola, sendo ao final de cada período e calculadas as percentagens de postura por repetição; massa de ovo (g/ave/dia) obtida pela multiplicação do

números de ovos produzidos e do peso médio do ovo de cada repetição no período; conversão alimentar (g de ração/g de ovo); calculada a partir da relação dos dados de consumo de ração pela massa de ovo produzida para cada repetição por período

3.2.5 Avaliação da qualidade interna e externa dos ovos frescos

A avaliação da qualidade dos ovos foi realizada por meio da gravidade específica (g/cm^3), qualidade do albúmen (unidade Haugh), porcentagem de gema, albúmen e casca (%), espessura da casca (mm) e cor da gema do ovo.

Para determinação desses parâmetros, durante os períodos experimentais, um dia por semana todos os ovos de cada parcela foram coletados, identificados e levados para o Laboratório de Avaliação da Qualidade de Ovos, localizado no Setor de Avicultura da UFC, onde foram armazenados à temperatura de 21°C até o dia seguinte, quando foram pesados individualmente em balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01 g (Marte Científica™ Model AD1000, max. 1010g), para determinação do peso médio dos ovos. Terminada a pesagem dos ovos, foram selecionados três ovos por parcela que foram submetidos, em sequência, as demais determinações conforme a etapas descritas a seguir.

Inicialmente a gravidade específica dos ovos foi determinada conforme procedimentos descritos por Freitas et al. (2004). Para obtenção do peso do ovo no ar e na água, foi montado o sistema de pesagem dos ovos sobre balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g (Marte Científica™ Model AD1000, max. 1010g). Na sequência a qualidade do albúmen foi realizada com a determinação da unidade Haugh (HAUGH, 1937), onde os ovos foram quebrados sobre uma superfície plana de vidro e com a utilização de um micrômetro analógico de profundidade (Micrômetro analógico Baxlo Haugh®, Baxlo Precision, Barcelona, Spain) mediu-se a altura (mm) do albúmen denso, que juntamente com o peso do ovo foram aplicados na equação: $UH = 100 \times \log(H - 1,7 \times P^{0,37} + 7,6)$, onde: UH = unidades Haugh; H = altura do albúmen em mm e P = peso do ovo em g.

Logo após, a gema foi separada o albúmen e pesada em balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g (Marte Científica™ Model AD1000, max. 1010g), sendo a sua proporção, obtido pela divisão do peso da gema pelo peso do ovo, multiplicado por 100. A gema foi avaliada quanto à cor, através da comparação através do aplicativo Digital YolkFan™. As cascas dos ovos após a quebra foram lavadas e postas para secar por 72 horas, e pesadas em balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g (Marte Científica™ Model AD1000, max. 1010g), sendo a proporção de casca obtido pela divisão do peso da casca pelo peso do ovo,

multiplicado por 100. A proporção de albúmen foi obtida por diferença, onde: *albúmen* = $100 - (\text{proporção de gema} + \text{proporção casca})$.

Para determinar a espessura da casca foram realizadas medidas em três regiões: polos maior e menor e região equatorial dos ovos, com o uso de micrômetro digital (Mitutoyo Company, Kawasaki, Japão) com divisões de 0,01mm, e feito uma média dos valores obtidos.

3.2.6 Oxidação lipídica do soro sanguíneo, fígado e segmentos do órgão reprodutor

No final do período experimental foram selecionadas duas aves de cada repetição com base no peso corporal médio da parcela, identificadas individualmente, submetidas a coleta de sangue por punção da veia braquial usando agulhas esterilizadas e tubos não heparinizados. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos em temperatura ambiente.

O soro resultante (sobrenadante) foi armazenado em tubos de eppendorf de 1,5 ml (eppendorf®) e imediatamente congelados em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenadas a -8°C até o momento das análises de oxidação lipídica. Em seguida, as duas aves foram eutanasiadas por eletronarcolese seguida de sangria de acordo com a Resolução Normativa CONCEA nº 37 de 15 de fevereiro de 2018. Para coleta dos órgãos (fígado, ovário, magno e úteros) que foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenadas a -8°C até o momento das análises de oxidação lipídica.

A oxidação lipídica no soro sanguíneo foi determinada pela concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo metodologia descrita por Draper & Hadley (1990), onde foram adicionados, em tubos de eppendorf de 2,0 ml (eppendorf®), 250µL de soro seguido por 400µL de ácido perclórico a 35% e aquecido no termomixer (Eppendorf ThermoMixer C®, Eppendorf, Hamburg, Germany) por 1 hora (37°C). Logo após a mistura foi centrifugada (1400 G por 10 minutos), depois foi retirado 600µL do sobrenadante e adicionado a 200µL de ácido tiobarbitúrico (1,2%). Essa mistura foi aquecida em termomixer (Eppendorf ThermoMixer C®, Eppendorf, Hamburg, Germany) por 30 minutos (95°C).

Em seguida, a solução foi resfriada em banho de gelo e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Espectrofotômetro 700PLUS®, Femto, São Paulo, Brasil) a 535nm. A curva padrão foi obtida usando malonaldeído e os resultados obtidos foram expressos em nmol MDA/ml de soro.

As amostras dos órgãos foram avaliadas através do método de extração ácido aquosa (CHERIAN et al., 2002). Para isso, em um tubo Falcon de 15ml, foram pesados

aproximadamente 2g dos órgãos devidamente homogeneizados e em seguida, foram adicionados 6,75 ml de ácido perclórico (3,86%) e 18,75µl de BHT (4,5%) sendo o conteúdo homogeneizado em Vórtex por 1 minuto. Posteriormente os tubos foram centrifugados a 8500 rpm por 10 minutos.

O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro (Whatman nº 1) e depois, 1 ml do filtrado foi colocado em tubo eppendorf de 2,0 ml (eppendorf®) e adicionando-se em seguida 1 ml de solução aquosa de TBA (20 mM). Os tubos foram aquecidos em aquecedor (Eppendorf ThermoMixer C®, Eppendorf, Hamburg, Germany) por 30 minutos a 95°C. Em seguida para reduzir a temperatura, os tubos foram colocados em banho de gelo. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Espectrofotômetro 700PLUS®, Femto, São Paulo, Brasil) a 531 nm. A concentração de TBARS foi calculada através de uma curva padrão de malonaldeído (MDA) e os resultados expressos em g de MDA/ kg de amostra.

3.2.7 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o “Statistical Analyses System” (SAS, 2000). Os dados foram analisados a análise de variância segundo um modelo inteiramente casualizado, e a comparação de médias entre todos os tratamentos pelo teste Student-Newman-Keuls (5%). Na sequência foram realizadas análises de regressão linear e quadráticas, considerando os dados dos tratamentos com a inclusão do extrato para estimar o nível ótimo de inclusão.

3.3 Resultados e discussão

Não foi observado efeito significativo dos tratamentos sobre os parâmetros de desempenho consumo de ração, produção de ovos, peso do ovo, massa de ovos e conversão alimentar (Tabela 4). Por sua vez, na análise de regressão observou-se efeito linear crescente para o consumo de ração ($y = 97,2675 + 0,0028x$; $R^2 = 0,82$).

A disponibilidade de nutrientes para os processos de produção como o desempenho produtivo e a qualidade de ovos, é garantida pelo consumo de ração dos animais. Sendo o consumo de ração, uma variável importante no acompanhamento do desempenho de galinhas poedeiras (FREITAS et al., 2017). Embora os dados de consumo de ração referente aos tratamentos que tiveram a inclusão do extrato tenham apresentado comportamento linear crescente, este aumento representou uma diferença de apenas 1,86 g entre o menor e o maior

nível de inclusão. Além disso, o teste de comparação de médias mostrou que a ingestão foi estatisticamente igual para todos os tratamentos, incluindo os tratamentos sem antioxidante e com BHT, o que refletiu nos demais parâmetros de desempenho que também não diferiram. Fatores que influenciam negativamente no consumo ou aproveitamento dos nutrientes podem induzir a problemas de desempenho, visto que, prioritariamente, a produção de ovos depende do atendimento das exigências em energia, enquanto, as exigências em proteína e aminoácido influenciam o peso do ovo (LEESON & SUMMERS, 1997).

Tabela 4 - Desempenho de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L

	Consumo de ração (g/ave/dia)	Produção de ovos (%/ave/dia)	Peso do ovo (g)	Massa de ovo (g/ave/dia)	Conversão alimentar (g/g)
Rações					
Sem Antioxidante	98,06	96,26	60,19	57,96	1,69
BHT ¹ , 200 mg	99,27	94,88	61,33	58,20	1,70
EEFSC ² , 200 mg	98,14	96,17	60,26	57,97	1,69
EEFSC, 400 mg	97,72	95,86	61,10	58,56	1,67
EEFSC, 600 mg	99,30	96,91	60,28	58,42	1,70
EEFSC, 800 mg	99,62	97,82	59,77	58,47	1,70
EEFSC, 1000 mg	100,00	96,72	60,99	58,98	1,69
<i>p-valor</i>					
ANOVA ³	0,5815	0,2419	0,1398	0,9199	0,7861
<i>p-valor</i>					
Regressão					
Linear	<0,0482	0,1649	0,9291	0,2662	0,5074
Quadrática	0,9195	0,5020	0,5348	0,9943	0,9600
EPM ⁴	0,3706	0,3017	0,1733	0,2383	0,0061

¹ BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ² EEFSC – Extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L; ³ ANOVA – Análise de variância; ⁴ EPM – Erro padrão da média. Consumo de ração: $97,2675 + 0,0028x$; $R^2 = 0,82$.

Dessa forma, considerando que as rações testadas nessa pesquisa foram formuladas para ter os mesmos valores de energia metabolizável, proteínas e aminoácidos e que não houve diferença significativa entre os tratamentos para o consumo de ração, é possível inferir que a inclusão de até 1000 mg/kg de ração do extrato da folha da *Syzygium cumini* L na ração de postura não prejudicou o aproveitamento da energia e nutrientes da ração, garantindo que a percentagem de postura, o peso do ovo, a massa de ovo e a conversão alimentar não fossem influenciados.

Outros trabalhos também avaliaram a utilização de extratos de plantas da mesma família (Myrtaceae) sobre o desempenho produtivo de galinhas poedeiras. Santos et al. (2020), constataram que a adição de até 200 mg/kg de ração do extrato da folha de araçá-amarelo

(*Psidium cattleianum* Sabine) não interferiu no consumo de ração, produção de ovos, massa de ovos e conversão alimentar de poedeiras Isa Brown. Porém, Gultepe et al. (2020), observaram aumento no consumo de ração, produção de ovos e massa de ovo de galinhas que receberam até 10 ml/L de água de extrato de murta (*Myrtus communis* L).

Em relação aos resultados de qualidade dos ovos (Tabela 5), não houve efeito significativo para a gravidade específica, unidades Haugh, porcentagens de albúmen, gema e casca, espessura de casca e cor da gema dos ovos avaliadas.

Tabela 5 – Qualidade interna e externa de ovos de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L

	Gravidade específica (g/cm ³)	Unidade Haugh	Gema (%)	Albúmen (%)	Casca (%)	Espessura casca (mm)	Cor da Gema
Rações							
Sem Antioxidante	1,09	90,50	26,84	63,24	9,89	0,36	5,17
BHT ¹ , 200 mg	1,09	89,40	26,50	63,24	10,05	0,37	5,50
EEFSC ² 200 mg	1,09	89,54	26,85	63,28	9,96	0,36	5,33
EEFSC 400 mg	1,09	89,28	26,27	63,47	9,88	0,35	5,33
EEFSC 600 mg	1,09	88,77	27,26	62,91	9,83	0,36	5,66
EEFSC 800 mg	1,09	89,58	26,97	62,87	10,04	0,31	5,17
EEFSC 1000 mg	1,09	89,25	26,93	63,10	9,92	0,36	5,50
<i>p</i> -valor							
ANOVA ³	0,0871	0,5401	0,3434	0,5265	0,4021	0,5817	0,5525
<i>p</i> -valor							
Regressão							
Linear	0,1857	0,8732	0,3992	0,1576	0,7882	0,4775	0,8007
Quadrática	0,2589	0,5899	0,8804	0,4565	0,6242	0,5525	0,8339
EPM ⁴	0,0002	0,2139	0,1153	0,0868	0,0307	0,0075	0,0758

¹ BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ² EEFSC – Extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L; ³ ANOVA – Análise de variância; ⁴ EPM – Erro padrão da média.

Gultepe et al. (2020), avaliando o extrato de murta (*Myrtus communis* L), a qual pertence a mesma família da *Syzygium cumini* L, encontraram diferença significativa na cor da gema dos ovos dos animais que receberam 10 ml de extrato/L de água, mas não observaram efeitos nas demais variáveis de qualidade. Boonthium et al. (2010), avaliando a utilização do extrato das folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L), que também pertence à família (Myrtaceae), nos níveis de 0, 10, 20, e 30 mg/kg de ração de galinhas poedeiras, não constaram efeitos significativos na qualidade de ovos. Por sua vez Martínez et al. (2020), observaram aumento da cor da gema e melhora na qualidade externa dos ovos, por meio do aumento da espessura da casca com a utilização de folha da goiabeira nos níveis de 0,5, 10 e 15 g/kg na ração de galinhas poedeiras com 27 semanas de idade.

Os efeitos do uso de extratos vegetais no desempenho e qualidade de ovos de galinhas poedeiras podem variar, principalmente no que diz respeito à composição dos compostos fenólicos presentes, processamento, tipo de solvente utilizado, quantidade utilizada (DENG et al., 2011), bem como a combinação com outros compostos, absorção e transformação metabólica (ABDEL-MONEIM et al., 2020). Além disso, a maioria dos compostos fenólicos possuem baixa disponibilidade, pois estes sofrem vários processos metabólicos no fígado como metilação, glucuronidação e sulfatação após ingestão o que pode influenciar na resposta animal (HU et al., 2019).

Os resultados da análise oxidação lipídica do soro sanguíneo, fígado, ovário, magno e útero (Tabela 6), medidas através das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), mostraram que não houve diferenças significativas entre as rações controle e aquelas que tiveram a inclusão do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L. Também não foi observado nenhum efeito significativo nas análises de regressões dos tratamentos de 200 a 1000 mg/kg de ração na inclusão do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L para oxidação lipídica nos diferente órgãos avaliados.

Tabela 6 – Oxidação lipídica do soro sanguíneo, fígado e segmentos do órgão reprodutor de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L

TBARS ¹	Soro (nmol de MDA ² /ml)	Fígado (g de MDA/kg)	Ovário (g de MDA/kg)	Magno (g de MDA/kg)	Útero (g de MDA/kg)
Rações					
Sem Antioxidante	5,73	2,62	0,70	2,08	3,88
BHT ³ , 200 mg	5,63	2,58	0,51	1,59	3,69
EEFSC ⁴ , 200 mg	5,56	2,75	0,55	1,62	4,00
EEFSC, 400 mg	5,66	2,51	0,54	1,64	4,03
EEFSC, 600 mg	5,57	2,62	0,47	1,81	3,99
EEFSC, 800 mg	5,63	2,77	0,51	1,73	3,98
EEFSC, 1000 mg	5,43	3,05	0,64	1,76	3,93
<i>p</i> -valor					
ANOVA ⁵	0,9956	0,8764	0,5377	0,6493	0,9807
<i>p</i> -valor					
Regressão					
Linear	0,7274	0,3698	0,3472	0,5212	0,8328
Quadrática	0,6522	0,3022	0,2094	0,7518	0,5732
EPM ⁶	0,1059	0,0987	0,0327	0,0750	0,1007

¹ Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; ² Malondialdeído; ³ BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ⁴ EEFSC – Extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L; ⁵ ANOVA – Análise de variância; ⁶ EPM – Erro padrão da média.

O extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L utilizado no presente estudo apresentava em sua composição polifenólica quercetina-3-O-galactosídeo, isorhamnetina-3-O-rutinoside e ácido elágico nas quantidades de 5,22, 6,1 e 4,09 mg/g de extrato respectivamente (Tabela 2). Como já mencionado a atividade biológica dos compostos fenólicos depende principalmente de sua biodisponibilidade. A absorção, transporte, metabolismo e distribuição destes nos tecidos são de grande importância para o seu efeito protetor (SURAI, 2002; HERVERT-HERNANDEZ et al., 2009; SURAI, 2014).

Uma vez ingeridos pelo animal, a quercetina e seus análogos monoglicosídeos são hidrolisados na parte superior do intestino delgado por beta-glicosidases e convertidas em uma forma de aglicona que é facilmente absorvida nos enterócitos através do transportador de glicose dependente de sódio (SGLT1), resultando em uma biodisponibilidade relativamente alta influenciando na resposta animal (RUPASINGHE et al., 2010; SAEED et al., 2017). Porém, os metabólicos de quercetina que se ligam a oligossacarídeos ou polissacarídeos como a Isorhamnetina-3-O-rutinoside são absorvidos no intestino grosso como agliconas via deglicosilação por enterobactérias. Desse modo, a absorção é mais lenta e a biodisponibilidade é menor (ULUSOY & SANLIER, 2020). Dessa forma, a falta de efeitos significativos para a oxidação lipídica do soro sanguíneo, fígado e segmentos do órgão reprodutor pode estar relacionada ao fato de o extrato utilizado apresentar maior concentração de isorhamnetina-3-O-rutinoside, visto que esta apresenta baixa biodisponibilidade no organismo animal em relação aos outros compostos fenólicos.

Além da baixa biodisponibilidade dos compostos fenólicos no sangue, a presença de constituintes diferentes dos normais existente no sangue tende a ser transitória, uma vez que a homeostasia sanguínea é fundamental para manter a saúde normal dos animais, que adotaram mecanismos fisiológicos adequados para a manutenção da homeostasia e assim regulam a quantidade destes compostos no sangue.

Os resultados também demonstram que as aves se encontravam em equilíbrio metabólico, ou seja, os sistemas de defesa antioxidante estavam agindo de forma eficiente, não sendo exigido atuação de compostos antioxidantes de origem dietética. O possível baixo grau de ativação imunitário dos animais não induziram estas ao estresse oxidativo intenso, indicando boa condição de saúde e respostas fisiológicas adequadas, confirmado pelo desempenho similar entre as aves.

Boonthium et al. (2010), observaram diminuição dos valores de TBARS do soro sanguíneo das galinhas poedeiras que receberam 20 mg/kg de ração de extrato das folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L). Resultados também encontrado por Aydin & Bolukbasi (2020),

que verificaram diminuição dos valores de TBARS no soro sanguíneo de poedeiras que receberam 130 mg/kg de ração de extrato de poejo (*Mentha pulegium* L) na ração. Diferente desses resultados, Voljč et al. (2013), não encontraram diferença significativa na oxidação lipídica do fígado de frangos de corte que foram alimentadas com rações contendo 3000 mg/kg de ração de extrato da madeira de castanha portuguesa (*Castanea sativa* Mill).

Embora não tenha resultados significativos sobre o desempenho produtivo, qualidade de ovos e oxidação lipídica no organismo das aves em postura, o extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L mostrou-se um promissor aditivo antioxidante nas rações, porém existe a necessidade de mais pesquisas para determinar o potencial da utilização do extrato às rações das galinhas poedeiras leves ao longo do ciclo de produção bem como em diferentes condições de manejo, incluindo fatores de estresse.

3.4 Conclusão

A inclusão de até 1000 mg/kg de extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração de postura não apresenta efeito adverso sobre o desempenho produtivo e a qualidade de ovos e bem como não afeta a oxidação lipídica no sangue, fígado e segmentos de órgão reprodutor de poedeiras leves com idade de 31 a 49 semanas.

4 QUALIDADE DE OVOS FRESCOS E ARMAZENADOS DE POEDEIRAS LEVES ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE *Syzygium cumini* L

RESUMO

Objetivou-se avaliar a utilização do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração de postura sobre a qualidade e a estabilidade oxidativa de ovos frescos e armazenados. Para isso 336 poedeiras Lohmann LS – Lite, com 31 semanas de idade, foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado para receberem sete rações experimentais, sendo seis repetições de oito aves cada. As rações foram: sem adição de antioxidante (controle); com adição de 200 mg/kg de ração do antioxidante BHT e rações com os níveis de 200, 400, 600, 800, e 1000 mg/kg de ração do extrato etanólico da folha *Syzygium cumini* L. Após 84 dias de alimentação, os ovos provenientes dessas aves foram coletados para serem avaliados frescos e armazenados por 28 dias sob temperatura ambiente. Foram determinados os indicadores de qualidade interna e externa dos ovos, os fenólicos totais, capacidade e atividade antioxidante (DPPH e ABTS) nos ovos e a oxidação lipídica (TBARS) na gema. Observou-se diminuição da qualidade dos ovos armazenados por 28 dias, e interação entre os fatores (rações e tempo de armazenamento) para fenólicos totais, onde verificou-se que os ovos das aves alimentadas com as diferentes rações apresentaram menor proporção de fenólicos com 28 dias de armazenamento, e a quantidade de fenólicos nos ovos das aves alimentadas com a ração sem aditivo ou com BHT foram menores em relação ao das aves alimentadas com os níveis de extrato, tanto nos ovos frescos quanto nos armazenados. Para DPPH e ABTS nos ovos, os valores encontrados das aves alimentadas com ração sem aditivo ou com BHT foram menores em relação aos ovos das aves alimentadas com os diferentes níveis de extrato. Os valores de TBARS determinados nos ovos das aves alimentadas com a ração sem aditivo foram maiores em relação com BHT e os diferentes níveis de extrato, já nos diferentes níveis de adição do extrato na ração, houve diferença apenas entre os resultados com a dose de 1000 mg/kg em relação as doses de 600 e 800 mg/kg. Também se verificou efeito quadrático dos níveis de extrato sobre os valores de TBARS com redução da oxidação lipídica até o nível estimado de 571,43 mg do extrato/kg de ração. Concluiu-se que o extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração de poedeiras leves aumenta a quantidade de fenólicos totais, DPPH e ABTS dos ovos e reduz a oxidação lipídica das gemas em ovos frescos e armazenados por 28 dias, sendo o nível ótimo de inclusão estimado em 571,43 mg do extrato /kg de ração.

Palavras-chaves: extratos vegetais; compostos fenólicos; capacidade antioxidante; oxidação lipídica.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the use of the ethanolic extract of the leaf of *Syzygium cumini* L in the laying diet on the quality and oxidative stability of fresh and stored eggs. For this, 336 laying hens Lohmann LS – Lite, 31 weeks old, were distributed in a completely randomized design to receive seven experimental diets, with six replications of eight birds each. The rations were: without addition of antioxidant (control); with addition of 200 mg/kg of ration of the antioxidant BHT and rations with the levels of 200, 400, 600, 800, and 1000 mg/kg of ethanolic extract of the leaf *Syzygium cumini* L. After 84 days of feeding, the eggs from these birds were collected to be evaluated fresh and stored for 28 days at room temperature. Indicators of internal and external egg quality, total phenolics, antioxidant capacity and activity (DPPH and ABTS) in the eggs and lipid oxidation (TBARS) in the yolk were determined. There was a decrease in the quality of eggs stored for 28 days, and interaction between the factors (rations and storage time) for total phenolics, where it was verified that the eggs of birds fed with different diets had a lower proportion of phenolics with 28 days of storage, and the amount of phenolics in the eggs of the birds fed the diet without additive or with BHT were lower in relation to the birds fed with the levels of extract, both in fresh and stored eggs. For DPPH and ABTS in eggs, the values found for birds fed with feed without additive or with BHT were lower in relation to eggs of birds fed with different levels of extract. The values of TBARS determined in the eggs of the birds fed with the feed without additive were higher in relation to BHT and the different levels of extract, since in the different levels of addition of the extract in the feed, there was difference only between the results with the dose of 1000 mg/kg in relation to doses of 600 and 800 mg/kg. There was also a quadratic effect of extract levels on TBARS values with a reduction in lipid oxidation up to the estimated level of 571.43 mg of extract/kg of feed. It was concluded that the ethanolic leaf extract of *Syzygium cumini* L in the diet of laying hens increases the amount of total phenolics, DPPH and ABTS in the eggs and reduces the lipid oxidation of the yolks in fresh eggs and eggs stored for 28 days, being the optimal level of inclusion estimated at 571.43 mg of extract/kg of feed.

Keywords: antioxidant capacity; lipid oxidation; phenolic compounds; plant extracts.

4.1 Introdução

O ovo é um alimento importante para a nutrição humana, sendo considerado um alimento completo, rico em proteínas, lipídios, vitaminas e minerais (SHANG et al., 2020). Porém, existem desafios quanto a sua deterioração durante o armazenamento, pois este é um alimento perecível e começa a perder sua qualidade interna imediatamente após a postura (MORALECO et al., 2019).

A gema do ovo contém grande quantidade de lipídios, principalmente ácidos graxos insaturados e polinsaturado (PUFA). Essa combinação favorece várias reações enzimáticas, entre as quais, a oxidação lipídica é a principal responsável para a perda do valor nutritivo, limitando sua capacidade de conservação e consequentemente reduzindo a vida de prateleira (GIAMPIETRO et al., 2008).

A adição dietética de aditivos com propriedades antioxidantes pode minimizar esses efeitos negativos (SANTOS et al., 2020). A maioria das pesquisas sobre o uso de antioxidantes tem sido realizada com a adição de produtos sintéticos como hidroxitolueno butilado (BHT) e butilado hidroxianisol (BHA). Existem, porém, muitas controvérsias em torno do uso destes, uma vez que tanto o BHT quanto o BHA apresentam propriedades cancerígenas nos humanos (AL-HARTHI, 2014; MORALECO et al., 2019).

Com isso observa-se tendência para o uso de antioxidantes de fontes naturais, nos quais podem ser usados como aditivos seguros nas dietas de galinhas poedeiras para manter a saúde animal e reduzir os efeitos adversos do armazenamento dos produtos animais, e melhoria da saúde humana devido principalmente aos efeitos funcionais dos compostos bioativos vegetais (HUBER et al., 2012; NUNES et al., 2019; OLAWUWO et al., 2022).

A presença destes compostos bioativos em plantas vem sendo bastante estudada, Galamatis et al. (2021), observaram melhoria da estabilidade oxidativa de ovos de galinhas que receberam Sálvia-comum (*Salvia officinalis* L) em níveis de 0,5 e 1,0% na ração das aves com 40 semanas de idade. Kothari et al. (2021) também encontraram aumento da estabilidade oxidativa de ovos de poedeiras Hy-line marrom alimentadas com rações contendo extrato fermentado da folha de pinheiro (*Pinus densiflora*) (0, 2,5 e 5 ml/kg de ração).

Ainda assim no Brasil, existe um déficit entre a diversidade da flora e a quantidade de pesquisa desenvolvida, o que determina um elevado potencial de estudo nessa área. Dentre as várias espécies de plantas, pesquisas tem demonstrado que a *Syzygium cumini* L, conhecida como azeitona roxa, jabolão e jamelão, apresenta um grande potencial antioxidante (CHAGAS et al., 2015).

A atividade antioxidante das folhas da *Syzygium cumini* L, vem sendo investigadas experimentalmente através de estudos *in vitro* (KSHIRSAGAR & UPADHYAY, 2009; NAHAR et al., 2009; REDDY & JOSE, 2013; ESHWARAPPA et al., 2014; MARGARET et al., 2015; KUMAR & KALAKOTI, 2015). Ruan et al. (2008), verificaram relação linear significativa entre o potencial antioxidante, capacidade de eliminação das substâncias reativas ao oxigênio (EROS) e o conteúdo de compostos fenólicos de extratos das folhas.

Em animais de produção, poucos trabalhos tem sido desenvolvidos com o uso dessa planta. No entanto, Freitas et al., (2017), trabalhando com a inclusão das folhas secas e trituradas (0, 5 e 10 g/kg) na dieta de galinhas poedeiras, observaram que os níveis 10 g/kg melhorou a estabilidade lipídica e a cor da gema dos ovos, sem prejudicar o desempenho e a qualidade dos ovos.

Diante do exposto, objetivou-se com o presente trabalho, avaliar a utilização do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração de postura sobre a qualidade e a estabilidade oxidativa de ovos frescos e armazenados de poedeiras leves.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Aquisição das folhas e preparação do extrato

As folhas da azeitona roxa (*Syzygium cumini* L) foram colhidas de julho-agosto de 2019, na Universidade Federal do Ceará. O material foi seco ao sol sobre uma lona plástica por 72 horas. Depois de secas as folhas foram trituradas.

A preparação do extrato etanólico da folha foi realizada no Laboratório de Extração de Produtos Naturais - localizado nas instalações do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo método de extração a frio utilizando o solvente orgânico etanol.

Inicialmente, o material triturado foi colocado em recipientes de vidro onde permaneceu submerso em etanol por um período de sete dias a temperatura ambiente. Em seguida, o material foi filtrado com ajuda de TNT (tecido não tecido) e submetido à evaporação em evaporador rotativo (Evaporador Rotativo TE – 210®, Tecnal, Piracicaba, Brasil), a 50°C, rotação de 60 rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente e obtenção do extrato etanólico. O solvente recuperado foi utilizado para re-extração por mais uma vez com as

mesmas condições da extração inicial. O extrato etanólico obtido foi acondicionado em recipiente de vidro e identificado para posterior utilização.

4.2.2 Determinação da capacidade antioxidante, atividade antioxidante total, fenólicos totais e composição polifenólica do extrato etanólico das folhas da *Syzygium cumini* L

Foram retiradas alíquotas do extrato para avaliação da capacidade antioxidante, atividade antioxidante total, determinação de compostos fenólicos totais e composição polifenólica, onde o butilato de hidroxitolueno (BHT) foi utilizado como padrão.

A capacidade antioxidante do extrato foi avaliada pela capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil), de acordo com o procedimento descrito por Brand-Williams et al. (1995) e Rufino et al. (2007), sendo os resultados expressos em $\mu\text{g/mL}$, referente à metade da concentração inibitória máxima (IC50).

A atividade antioxidante total (AAT) foi determinada por meio de ensaio com o radical livre ABTS⁺ (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) e o resultado expresso em μM de capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) por g de extrato (MILLER et al., 1993).

A análise dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu, expresso em mg de equivalente de ácido gálico - EqAG – por g de extrato (FOLIN & CIOCALTEAU, 1927; MUELLER-HARVEY, 2001) (Tabela 7).

Tabela 7 - Capacidade antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L.

Antioxidantes	DPPH ¹ IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	ABTS ² (μM TEAC/g)	Fenólicos totais (mg EqAG/g)
BHT ³	20,05	350,83	
EEFAR ⁴	21,00	295,51	99,40

¹ Radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil; ² Radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); ³ Butilado hidroxitolueno; ⁴ Extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L.

A quantificação da composição polifenólica foi feita por HPLC-ESI-MS, conduzido em um HPLC Agilent 1100, acoplado a um único detector quadrupolo seletivo de massa (HP 1101; Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha). A separação cromatográfica de extratos metanólicos foi conduzido usando uma coluna de fase reversa C18 Gemini (5 μm) (250 x 4,6 mm I.D.) Phenomenex (Aschaffenburg, Alemanha) de acordo com o método descrito por Maia et al. (2018). Os resultados foram expressos em mg/g de extrato (Tabela 8).

Tabela 8 - Composição polifenólica do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L.

Compostos fenólicos	mg/g
Quercetina-3-O-galactoside	5,22
Isorhamnetina-3-O-rutinoside	6,21
Ácido elágico	4,09

4.2.3 Experimento com aves

Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – UFC), localizado em Fortaleza, Brasil, sob números 5328300919, os quais estão e está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura da UFC em um galpão convencional para criação de poedeiras alojadas em gaiolas de arame galvanizado (25 x 40 x 45 cm) com capacidade para 2 aves por gaiola dotadas de comedouro calha e bebedouro nipple. Foram utilizadas 336 poedeiras leves da linhagem Lohmann LS - Lite com 31 semanas de idade e peso médio de 1,491 kg e produção de ovos de 96%. As aves foram selecionadas, com base no peso e produção de ovos e distribuídas uniformemente nas unidades experimentais, de modo que todas as repetições tivessem aves com pesos e produção de ovos similares, conforme recomendações de Sakomura & Rostagno (2007).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e seis repetições de oito aves cada. Os tratamentos aplicados foram constituídos por rações, sendo duas rações controle, negativo (sem adição de antioxidante) e positivo (adição de 200 mg de BHT) e cinco rações com a inclusão dos níveis de 200, 400, 600, 800, e 1000 mg/kg de ração do extrato etanólico da folha *Syzygium cumini* L.

A ração controle negativo (Tabela 9) foi formulada de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo manual da linhagem e considerados os valores de composição nutricional e energética dos ingredientes apresentados por Rostagno et al. (2017) com a utilização de um ingrediente inerte (areia lavada) na concentração de 1%. As demais rações foram obtidas pela substituição do inerte pelo BHT, para o tratamento controle positivo, e do inerte pelo extrato etanólico da folha *Syzygium cumini* L de acordo com o nível proposto para cada tratamento, para que todas as rações fossem isonutrientes e isoenergéticas.

O período experimental foi de 126 dias divididos em 6 períodos com duração de 21 dias cada. O programa de luz utilizado foi de 16 horas de luz por dia, sendo 12 horas de luz

natural e 4 horas de luz artificial. Durante o período experimental, os dados de temperatura e de umidade relativa média do ar foram registrados por Dataloguer (HOBO®, Bourne, Estados Unidos), sendo as médias de temperatura e umidade relativa do ar no galpão, durante o período experimental de 28,75°C e 63,55%, respectivamente.

Tabela 9 - Composição e valor nutricional calculado da dieta controle.

Ingredientes	%
Milho	58,97
Farelo de soja	28,16
Calcário calcítico	9,18
Fosfato bicálcico	1,63
Óleo de soja	1,30
Sal comum	0,38
DL-Metionina	0,11
Suplemento vitamínico ¹	0,10
Suplemento mineral ²	0,05
Inerte	0,10
Total	100,00
Composição calculada de energia e nutrientes	
Energia metabolizável, kcal/kg	2.750
Proteína bruta, %	17,00
Cálcio, %	3,90
Fosforo disponível, %	0,40
Sódio, %	0,17
Metionina dig. %	0,35
Metionina + cistina dig. %	0,60
Lisina dig. %	0,83
Treonina dig. %	0,60
Triptofano dig. %	0,19

¹ Composição por kg de produto: Vit. A – 9.000.000,00 UI; Vit. D3 – 2.500.000,00 UI; Vit. E – 20.000,00 mg; Vit. K3 – 2.500,00 mg; Vit. B1 – 2.000,00 mg; Vit. B2 – 6.000,00 mg; Vit. B12 – 15,00 mg; Niacina – 35.000,00 mg; Ácido pantotênico – 12.000,00 mg; Vit. B6 – 8.000,00 mg; Ácido fólico – 1.500,00 mg; Selênio – 250,00 mg; Biotina – 100,00 mg. ² Composição por Kg do produto: Ferro – 100.000,00 mg; Cobre – 20,00 g; Manganês – 130.000,00 mg; Zinco – 130.000,10 mg; Iodo – 2.000,00 mg.

4.2.4 Avaliação da qualidade dos ovos frescos e armazenados

No quinto período experimental, foram avaliadas a qualidade dos ovos submetidos a dois períodos de armazenamento 0 e 28 dias. Para isso, todos os ovos produzidos de cada repetição, foram coletados durante três dias seguidos e 14 deles foram selecionados com base no peso médio (sete para o tempo 0 e sete para 28 dias de armazenamento), tendo-se evitado os

ovos quebrados, trincados ou sujos. Após a seleção e identificação, os ovos que seriam analisados no tempo 28 dias de armazenamento foram acondicionados em bandejas de papelão e armazenados sob temperatura ambiente, na qual, foi monitorada diariamente com o uso de um termômetro digital, onde foram registrados valores médios de 27,09 °C e 70,74% de umidade relativa do ar.

Para viabilizar as metodologias de análises, dos sete ovos armazenados por repetição, três foram utilizados para avaliação da qualidade interna e externa, dois para a determinação da oxidação lipídica da gema e os outros dois para as análises de quantificação dos compostos fenólicos totais, avaliação da capacidade e atividade antioxidante dos ovos.

A avaliação da qualidade dos ovos frescos e armazenados foi realizada por meio gravidade específica (g/cm^3), qualidade do albúmen (unidade Haugh), porcentagens de gema, albúmen e casca (%), espessura da casca (mm) e cor da gema do ovo.

Para determinação desses parâmetros, os ovos de cada parcela foram levados para o Laboratório de Avaliação da Qualidade de Ovos, localizado no Setor de Avicultura da UFC, onde foi inicialmente avaliado a gravidade específica dos ovos conforme procedimentos descritos por Freitas et al. (2004). Para obtenção do peso do ovo no ar e na água, foi montado o sistema de pesagem dos ovos sobre balança semianalítica (Marte Científica™ Model AD1000, max. 1010g), com sensibilidade de 0,01g. Na sequência a qualidade do albúmen foi realizada com a determinação da unidade Haugh (HAUGH, 1937), onde os ovos foram quebrados sobre uma superfície plana de vidro e com a utilização de um micrômetro analógico de profundidade (Micrômetro analógico Baxlo Haugh®, Baxlo Precision, Barcelona, Spain) mediu-se a altura (mm) do albúmen denso, que juntamente com o peso do ovo foram aplicados na equação: $UH = 100 \times \log(H - 1,7 \times P^{0,37} + 7,6)$, onde: UH = unidades Haugh; H = altura do albúmen em mm e P = peso do ovo em g.

Logo após, a gema foi separada o albúmen e pesada em balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g (Marte Científica™ Model AD1000, max. 1010g), sendo a sua proporção, obtido pela divisão do peso da gema pelo peso do ovo, multiplicado por 100. A gema foi avaliada quanto à cor, através da comparação através do aplicativo Digital YolkFan™. As cascas dos ovos após a quebra foram lavadas e postas para secar por 72 horas, e pesadas em balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g (Marte Científica™ Model AD1000, max. 1010g), sendo a proporção de casca obtido pela divisão do peso da casca pelo peso do ovo, multiplicado por 100. A proporção de albúmen foi obtida por diferença, onde: $\text{albúmen} = 100 - (\text{proporção de gema} + \text{proporção casca})$.

Para determinar a espessura da casca foram realizadas medidas em três regiões: polos maior e menor e região equatorial dos ovos, com o uso de micrômetro digital (Mitutoyo Company, Kawasaki, Japão) com divisões de 0,01mm, e feito uma média dos valores obtidos.

4.2.5 Oxidação lipídica da gema dos ovos frescos e armazenados

A oxidação lipídica da gema dos ovos foi avaliada por meio da determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) pelo método de extração ácido aquosa, com adaptações (CHERIAN et al., 2002). Em um tubo Falcon de 15 ml, aproximadamente 2 g da amostra fresca foram homogeneizados por 1 minuto com 6,75 ml de ácido perclórico (3,86%) e 18,7 µl de BHT (4,5%). O homogeneizado foi filtrado e 1 ml foram transferidos para tubos de Eppendorf (eppendorf®), juntamente com 1 ml de ácido 2-tiobarbitúrico (20 mM).

Essa mistura foi aquecida em termomixer termomixer (Eppendorf ThermoMixer C®, Eppendorf, Hamburg, Germany), por 30 minutos (95°C). Em seguida, a solução foi resfriada em banho de gelo e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Espectrofotômetro 700PLUS®, Femto, São Paulo, Brasil), a 535nm.

A curva padrão foi obtida usando malonaldeído e os resultados obtidos foram expressos em g de malonaldeído / kg de gema.

4.2.6 Determinação dos compostos fenólicos totais, capacidade e atividade antioxidante dos ovos frescos e armazenados

Para fazer as análises antioxidantes foi necessário inicialmente preparar o extrato dos ovos desidratados (secos em estufa 55 °C por 72 horas), de acordo com Smet et al., (2006) com algumas adaptações.

Em 1 g de ovo desidratado, foram adicionados 3 ml de água destilada e em seguida acrescentou 10 ml de metanol e procedida a homogeneização por 1 hora em Vortex. Após 1 hora foi feita a centrifugação por 5 minutos a 5000 rpm, em seguida o conteúdo foi filtrado em papel filtro contendo sulfato de sódio.

A extração de fenólicos totais foi feita segundo Johnson et al. (2008), e a quantificação de acordo com Genovese et al. (2008), com algumas adaptações. Em um tubo de Eppendorf de 2,0 ml (eppendorf®) adicionou-se 0,125 ml do extrato do ovo, em seguida misturou 0,125 ml de Folin-ciocautau (10%) e 1 ml de água destilada, a amostra foi agitada e após 3 minutos adicionou-se 0,125 ml de carbonato de sódio. Logo em seguida o conteúdo foi

incubado a 37 °C por 30 minutos no termomixer (Eppendorf ThermoMixer C®, Eppendorf, Hamburg, Germany). Após 30 minutos a leitura foi feita no espectrofotômetro (Espectrofotômetro 700PLUS®, Femto, São Paulo, Brasil), a 750 nm. A quantificação foi realizada com base na curva padrão gerada com ácido gálico e os resultados expressos em equivalentes de ácido gálico mgEAG/100g de amostra seca.

A capacidade antioxidante foi determinada utilizando o método de sequestro do radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil), baseado na sua captura por antioxidantes e produzindo um decréscimo da absorbância. O método de DPPH foi realizado de acordo com Arabshahi-Delouee & Urooj (2007), com adaptações. No ensaio, 0,5 ml do extrato metanólico do ovo foi misturada a 1,5 ml da solução de DPPH (6×10^{-5} Mol/L), sendo mantido por 30 minutos à temperatura ambiente na ausência de luz. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Espectrofotômetro 700PLUS®, Femto, São Paulo, Brasil), a 517nm).

A inibição (descoloração) do DPPH foi calculada como a percentagem relativa de absorbância da amostra no momento da leitura e comparada com o branco (somente radical DPPH) usando a seguinte equação: $\% \text{ capacidade antioxidante DPPH} = [(absorbância \text{ controle} - absorbância \text{ amostra}) / absorbância \text{ controle}] * 100$

A atividade antioxidante foi determinada por meio do ensaio ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)6-ácido sulfônico), realizada de acordo com Chen et al., (2011) com adaptações. Inicialmente preparou-se o Radical ABTS⁺ no qual é produzido por meio da reação de ABTS 7 mmol/L com um volume igual de Persulfato de potássio 2,45 mmol/L. O sistema foi mantido em repouso, à temperatura ambiente (25°C), durante 16 horas na ausência de luz. Uma vez formado o radical ABTS⁺, o mesmo foi diluído com etanol e realizada a leitura da absorbância até se obter um valor de $0,70 \pm 0,05$ nm a um comprimento de onda de 734nm.

A partir do extrato obtido dos ovos, um tubo de Eppendorf de 1,5 ml (Eppendorf®) adicionou-se 10 µl do extrato em seguida acrescentou 1 ml da solução diluída de ABTS⁺ e homogeneizou no vórtex por 10 segundos e logo depois as amostras foram incubadas no escuro por 6 minutos a temperatura ambiente. Após esse período a leitura foi realizada no espectrofotômetro (Espectrofotômetro 700PLUS®, Femto, São Paulo, Brasil), a 734 nm.

A inibição (descoloração) do radical ABTS foi calculada como a percentagem relativa de absorbância da amostra no momento da leitura e comparada com o branco (somente radical ABTS⁺) usando a seguinte equação: $ABTS (\%) = (absorbância \text{ do controle} - absorbância \text{ da amostra}) / absorbância \text{ do controle} \times 100$

4.2.7 Análise estatística

As análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando o “*Statistical Analyses System*” (SAS, 2000), considerando-se o nível de 5% de probabilidade para significância em todas as análises.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento ANOVA, segundo um modelo inteiramente casualizado em esquema fatorial (7x2), sendo sete rações experimentais e dois 2 tempos de armazenamento dos ovos (zero e 28 dias de armazenamento). A comparação das médias foi realizada pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

Para determinar o melhor nível de inclusão do extrato etanólico da folha *Syzygium cumini* L. nas rações, os dados obtidos com as rações que continham os diferentes níveis de extrato foram submetidos à análise de regressão polinomial.

4.3 Resultados e discussão

Conforme os resultados (Tabela 10), não houve interação significativa entre as rações e o tempo de armazenamento para nenhuma das variáveis de qualidade dos ovos. Também se observou que a alimentação recebida pelas aves não influenciou significativamente a qualidade dos ovos, porém, houve efeito significativo do tempo de armazenamento nas variáveis gravidade específica, unidade Haugh, porcentagem de albúmen, gema e cor da gema (Tabela 4). Os ovos armazenados por 28 dias apresentaram diminuição da gravidade específica, unidade Haugh e porcentagem de albúmen, assim como aumento na porcentagem e na cor da gema.

Essas alterações estão diretamente relacionadas aos efeitos do tempo e as condições de armazenamento, já relatados por vários pesquisadores. Com o passar dos dias de armazenamento o albúmen denso se torna liquefeito devido a reações químicas que ocorrem em seu interior com a entrada de oxigênio pelos poros da casca, o que leva a desestabilização do ácido carbônico (H_2CO_3) um dos componentes do sistema tampão do albúmen, no qual se dissocia para formar água e dióxido de carbono (CO_2). Em condições naturais o CO_2 se difunde e evapora através dos poros da casca, reduzindo a proporção de albúmen e a gravidade específica dos ovos. Esse processo também faz com que ocorram aumento do pH do albúmen e dissociação das proteínas lisozima e ovomucina, diminuindo a viscosidade e a altura do albúmen, cuja perda de qualidade será medida com a redução da unidade Haugh (FEDDERN et al., 2017; ARRUDA et al., 2019).

Tabela 10 – Qualidade de ovos frescos e armazenados de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L

	Gravidade específica (g/cm ³)	Unidade Haugh	Albúmen (%)	Gema (%)	Casca (%)	Espessura da casca (mm)	Cor da gema
Rações							
Sem antioxidante	1,070	71,09	60,91	29,39	9,70	0,32	6,33
BHT ¹ 200 mg	1,070	71,20	61,73	28,53	9,74	0,34	6,53
EEFSC ² 200 mg	1,069	71,03	60,85	29,44	9,71	0,34	6,10
EEFSC 400 mg	1,070	71,04	61,95	28,38	9,67	0,32	5,51
EEFSC 600 mg	1,069	69,82	60,58	29,61	9,80	0,34	6,08
EEFSC 800 mg	1,070	69,01	61,03	29,14	9,83	0,29	5,99
EEFSC 1000 mg	1,068	69,21	61,73	28,67	9,60	0,35	6,12
Armazenamento							
0 dias	1,087A	92,84A	63,72A	26,54B	9,74	0,32	5,37B
28 dias	1,052B	47,84B	58,79B	31,51A	9,70	0,33	6,82A
ANOVA ³							
<i>p</i> -valor							
Rações	0,8951	0,4701	0,2482	0,3503	0,1836	0,2616	0,1150
Armazenamento	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,4276	0,6487	<0,0001
Rações*Armaze.	0,0864	0,1786	0,6309	0,5270	0,3132	0,9999	0,0754
Regressão							
<i>p</i> -valor							
Linear	0,9336	0,7933	0,7637	0,7784	0,8108	0,7516	0,6143
Quadrática	0,8598	0,9754	0,7576	0,8732	0,0523	0,2248	0,5354
EPM ⁴	0,0020	2,4988	0,3213	0,3229	0,0244	0,0058	0,1234

¹ BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ² EEFSC – Extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L; ³ ANOVA – Análise de variância; ⁴ EPM – Erro padrão da média;

Na coluna, médias seguidas de letras maiúsculas distintas indicam diferença estatística pelo teste SNK (P<0,05).

Por sua vez, a liquefação do albúmen também resulta em água ligada a moléculas de proteínas que atravessam a membrana vitelínica por osmose, ocasionando um aumento da gema (BARBOSA et al., 2008; PISSINATI et al., 2014). A redução da qualidade dos ovos em função do período de estocagem é linear, sendo significativamente mais acentuada nos ovos mantidos em temperatura ambiente (BARBOSA et al., 2008; MENEZES et al., 2012).

Os resultados obtidos para as alterações nas características dos ovos com o tempo de armazenamento corroboram com os encontrados por Barbosa et al. (2008), Garcia et al., (2010), Lana et al., (2017) e Arruda et al. (2019), que também observaram diminuição da unidade Haugh, porcentagem de albúmen e aumento da porcentagem de gema de ovos com o passar dos dias de armazenamento.

A maior coloração da gema dos ovos que foram armazenados, pode estar relacionada a oxidação proteica, pois segundo Sauveur (1993), em ovos armazenados por

longos períodos de tempo, apresentam passagem de proteínas do albúmen para a gema, o que pode levar à modificação de sua coloração por reações de oxidação proteica, visto que as proteínas são o segundo substrato mais susceptível à oxidação pelas EROS. Estes resultados corroboram os relatos de Lee et al. (2016), que constataram gemas com coloração mais intensas com o aumento do período de armazenamento, quando avaliaram a qualidade de ovos armazenados entre 2 a 30 dias em três diferentes temperaturas (2, 12 e 25 °C).

Na avaliação dos compostos fenólicos, capacidade e atividade antioxidante dos ovos e oxidação lipídica da gema (Tabela 11), observou-se interação significativa entre os fatores (rações e tempo de armazenamento) somente para fenólicos totais. Com relação aos efeitos dos fatores analisados, observou-se que a capacidade antioxidante medida pelo método DPPH, a atividade antioxidante medida pelo método ABTS e a oxidação lipídica avaliada pelo método TBARS, foram influenciados isoladamente pelas rações e pelo tempo de armazenamento.

Tabela 11 – Fenólicos totais, capacidade antioxidante (DPPH), atividade antioxidante (ABTS) de ovos e oxidação lipídica (TBARS) de gemas de ovos frescos e armazenados de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L

	Fenólicos totais (mg EAG/100g de amostra)	DPPH (%)	ABTS (%)	TBARS (g de malonaldeído/kg de gema)
Rações				
Sem antioxidante	249,01	53,86D	20,51D	1,64A
BHT ¹ 200 mg	256,31	54,23D	20,56D	1,38B
EEFSC ² 200 mg	276,60	56,51C	21,29CD	1,28BC
EEFSC 400 mg	300,25	57,34BC	22,08BCD	1,20BC
EEFSC 600 mg	317,72	58,33B	22,65BC	1,13C
EEFSC 800 mg	332,92	59,07AB	23,59AB	1,11C
EEFSC 1000 mg	347,40	60,15 ^a	24,79A	1,39B
Armazenamento				
0	325,21	61,34 ^a	23,32A	1,06B
28	269,13	52,80B	21,10B	1,54A
ANOVA ³ <i>p</i> -valor				
Rações	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Armazenamento	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Rações*Armaz.	<0,0001	0,4897	0,8843	0,9813
Regressão <i>p</i> -valor				
Linear	-	0,0520	<0,0001	0,6186
Quadrática	-	0,9658	0,6181	<0,0148
EPM ⁴	5,1841	0,5600	0,2690	0,0384

¹ BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ² EEFSC – Extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L; ³ ANOVA – Análise de variância; ⁴ EPM – Erro padrão da média.

Na coluna, médias seguidas de letras maiúsculas distintas indicam diferença estatística pelo teste SNK (P<0,05);

No desdobramento da interação (Tabela 12), observou-se que os ovos das aves alimentadas com as diferentes rações apresentaram menor proporção de compostos fenólicos ao final do período de 28 dias de armazenamento em temperatura ambiente. Considerando que durante a estocagem, os ovos sofrem oxidação lipídica aumentando a concentração de produtos primários e secundários da peroxidação (SĂRĂCILĂ et al., 2017) e que a magnitude desse evento está diretamente relacionado à composição lipídica da gema e à transferência de antioxidantes para os ovos (SHAHRYAR et al., 2010; SĂRĂCILĂ et al., 2017), pode-se inferir que a redução na quantidade de compostos fenólicos com o tempo de armazenamento dos ovos pode ser associada a sua utilização nas reações de prevenção dos processos oxidativos.

A redução dos fenólicos totais com o armazenamento dos ovos também tem sido relatada por outros pesquisadores. Barbosa et al. (2011), observaram que ovos armazenados por 35 dias em temperatura ambiente (26,5 C) apresentaram concentração de fenólicos na gema reduzida de 28,55 para 22,09 g/g. Omri et al. (2019), relataram que, tanto para os ovos do grupo controle quanto para das aves que receberam alimentos ricos em compostos fenólicos nas rações, houve redução na quantidade de compostos fenólicos totais nos ovos com o armazenamento. Shang et al. (2020), relataram que o conteúdo de fenólicos totais dos ovos diminuiu com o passar das semanas de armazenamento, sendo que a partir da quarta semana, o conteúdo fenólico diminuiu significativamente.

Tabela 12 – Desdobramento da interação para fenólicos totais (mg EAG/100g de amostra) de ovos de poedeiras leves alimentadas com rações contendo extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L

Rações	Dias de armazenamento	
	0	28
Sem antioxidante	265,22Ea	232,79Fb
BHT ¹ 200 mg	274,83Ea	237,79Fb
EEFSC ² 200 mg	293,95Da	259,25Eb
EEFSC 400 mg	327,41Ca	273,08Db
EEFSC 600 mg	352,77Ba	282,67Cb
EEFSC 800 mg	373,09Aa	292,75Bb
EEFSC 1000 mg	389,19Aa	305,60Ab
Regressão	<i>p-valor</i>	
Linear	<0,0001	<0,0001
Quadrática	0,0925	0,9054

¹ BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ² EEFSC – Extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L.

Na coluna, médias seguidas de letras maiúsculas distintas indicam diferença estatística pelo teste SNK (P<0,05); Na linha, médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferença estatística pelo teste SNK (P<0,05).

Quanto ao efeito das rações, no teste de médias (Tabela 12), se observou que a quantidade de fenólicos totais nos ovos das aves alimentadas com a ração sem aditivo ou com BHT não diferiram entre si e foram significativamente menores em relação ao das aves alimentadas com os diferentes níveis de extrato, tanto nos ovos frescos quanto nos armazenados. Em relação aos diferentes níveis de adição do extrato na ração, observou-se aumento no teor de fenólicos totais com o acréscimo da adição do extrato, com diferença na resposta entre ovos frescos e armazenados, apenas para os níveis de 800 e 1000 mg/kg de extrato na ração. Nos ovos frescos estes níveis não diferiram entre si, enquanto, nos armazenados por 28 dias a suplementação de 1000 mg/kg do extrato na ração resultou em maiores concentrações de fenólicos totais.

Por sua vez, na análise de regressão, observou-se efeito linear crescente da concentração de compostos fenólicos totais nos ovos com o acréscimo de extrato na ração, tanto para os ovos frescos ($Y = 276,44 + 0,1181x$; $R^2 = 0,98$) quanto para os armazenados por 28 dias em temperatura ambiente ($Y = 248,96 + 0,0562x$; $R^2 = 99$).

Os compostos fenólicos na ração podem ser depositados nos ovos, transportados diretamente ou através de transformações no corpo das galinhas (SHANG et al., 2020). Assim a maior proporção de compostos fenólicos no ovo com o acréscimo de extrato na ração pode ser associada ao aumento destes na ração. Na constituição polifenólica do extrato das folhas de *Syzygium cumini* L utilizado nesta pesquisa estão presentes quercetina-3-O-galactosídeo, isorhamnetina-3-O-rutinoside e ácido elágico nas quantidades de 5,22, 6,1 e 4,09 mg/g de extrato respectivamente (Tabela 8). A quercetina e seus metabólicos são os que mais apresentam lipofilicidade, sendo facilmente incorporados as membranas celulares, podendo ser armazenados em vesículas por apresentar uma estrutura polar, evitando assim que estes sejam assimilados pela membrana, permanecendo maior tempo no organismo (BARREIROS et al., 2006). Essas características da quercetina e seu metabolitos podem contribuir para que haja transferência dos compostos para gema, colaborando dessa forma no aumento dos compostos fenólicos nos ovos.

Corroborando com esses resultados, Untea et al. (2020), verificaram aumento significativo na concentração de fenólicos totais presentes na gema de ovos de poedeiras com 32 semanas de idade, que foram alimentadas com rações contendo 0,5% de folhas de mirtilo (*Vaccinium sect. Cyanococcus*). Já Benakmoum et al, (2013), relataram que ao adicionar casca de tomate seco na ração de poedeiras (3, 7, 10 e 13%) aumentou teores de fenólicos totais em gema de ovo de galinhas poedeiras que receberam o aditivo na ração.

Para capacidade antioxidante (DPPH), no teste de médias (Tabela 11), observou-se que os valores determinados nos ovos das aves alimentadas com a ração sem aditivo ou com BHT não diferiram entre si e foram significativamente menores em relação ao das aves alimentadas com os diferentes níveis de extrato. Em relação aos diferentes níveis de adição do extrato na ração, os resultados indicaram aumento da capacidade antioxidante dos ovos com o acréscimo do extrato. A dose de 200 mg/kg proporcionou resultado significativamente menor em relação aos resultados obtidos a partir da dose de 600 mg/kg, enquanto, as doses de 400 e 600 mg/kg, proporcionaram resultados significativamente menores em relação a dose de 1000 mg/kg de extrato na ração. Por sua vez, na análise de regressão, observou-se que não houve efeito significativo do acréscimo de extrato na ração sobre esta variável.

Para atividade antioxidante (ABTS), no teste de médias (Tabela 11), se observou que os valores determinados nos ovos das aves alimentada com a ração sem aditivo ou com BHT não diferiram entre si e foram significativamente menores em relação ao das aves alimentadas com o extrato nas doses de 600, 800 ou 1000 mg/kg. Em relação aos diferentes níveis de adição do extrato na ração, os resultados indicaram aumento da atividade antioxidante dos ovos com o acréscimo da adição do extrato, contudo, houve diferença significativa apenas entre os resultados obtidos com as doses de 200, 400 e 600 mg/kg em relação aos resultados obtidos com as doses de 800 e 1000 mg/kg. Na análise de regressão, observou-se o efeito significativo do acréscimo de extrato na ração sobre a atividade antioxidante dos ovos (ABTS), havendo aumento linear ($Y = 20,323 + 0,0043x$; $R^2 = 0,98$).

Na avaliação da oxidação lipídica da gema medida pelo teor de TBARS (Tabela 11), observou-se que os valores determinados nos ovos das aves alimentada com a ração sem aditivo foram significativamente maiores em relação ao das aves alimentadas com BHT e os diferentes níveis de extrato. Por sua vez, os resultados obtidos com BHT não diferiram dos obtidos com as doses de 200, 400 e 1000 mg/kg e foram significativamente maiores em relação aos obtidos com as doses de 600 e 800 mg/kg. Em relação aos diferentes níveis de adição do extrato na ração, houve diferença significativa apenas entre os resultados obtido com a dose de 1000 mg/kg em relação aos obtidos com as doses de 600 e 800 mg/kg.

Conforme a análise de regressão, houve efeito significativo do acréscimo de extrato na ração sobre a oxidação lipídica na gema dos ovos, observando-se efeito quadrático dos níveis de extrato sobre os valores de TBARS ($Y = 1,573 - 0,0016x + 0,0000014x^2$; $R^2 = 0,84$), indicando redução da oxidação lipídica com o aumento do nível de inclusão do extrato na ração, atingindo um valor mínimo com o nível estimado de 571,43 mg do extrato/kg de ração, aumentando nos níveis subsequentes.

Considerando que em galinhas poedeiras os antioxidantes dietéticos são preferencialmente depositados nos ovos, devido a manutenção de nutrientes na gema ser um fator importante para garantir a sobrevivência do embrião (LOETSCHER et al., 2014), pode-se inferir que os efeitos da adição do extrato etanólico das folhas da *Syzygium cumini* L., aumentando a capacidade e a atividade antioxidante e diminuindo a oxidação lipídica na gema dos ovos, devem-se aos constituintes antioxidantes presentes no extrato que podem ser transferidos para os ovos a partir da ração. Esses resultados estão de acordo com as observações de outros pesquisadores (ALIZADEH et al., 2015; KARA et al., 2016; NUNES et al., 2019; ABD EL-HACK et al., 2022; SHAHID et al., 2022), segundo os quais os aditivos alimentares contendo compostos fenólicos, quando utilizados em rações de aves poedeiras, podem reduzir os efeitos oxidantes e aumentar a vida útil dos ovos armazenados.

As propriedades biológicas dos extratos vegetais obtidos de plantas da família Myrtaceae tem sido descrita na literatura, com destaque para atividade antioxidante, inibindo a oxidação lipídica. Santos et al. (2020) observaram menores níveis de lipoperoxidação lipídica e maior capacidade antioxidante total das gemas de ovos de galinhas Isa Brown que receberam adição de até 200 mg do extrato da folha de araçá-amarelo (*Psidium cattleianum* Sabine) /kg de ração. Bulbul et al. (2014), também observaram diminuição da oxidação lipídica da gema de ovos de codornas de postura (*Coturnix coturnix japonica*) que foram suplementadas com até 1000 mg de óleo de murta (*Myrtus communis* L.) /kg de ração. Por sua vez, Freitas et al. (2017), observaram que a inclusão das folhas secas e trituradas de *Syzygium cumini* L (0, 5 e 10 g/kg) na ração de galinhas poedeiras reduziu a oxidação lipídica nas gemas dos ovos, com melhor resultado para o nível 10 g/kg.

Como foi descrito anteriormente, o extrato utilizado possuía na sua constituição polifenólica quercetina-3-O-galactosídeo, isorhamnetina-3-O-rutinoside e ácido elágico (Tabela 8). A propriedade mais bem descrita da quercetina e seus análogos é a capacidade de doar elétrons devido à presença de um grupo hidroxila fenólico. Esta propriedade é essencial para exercer atividade antioxidante na eliminação das EROS, como ânions superóxido, radicais peridroxil e radical peroxila lipídicos propagadores de cadeia, ou seja, atua desde a inibição da iniciação da oxidação lipídica até a prevenção da propagação em cadeia (LAKHANPAL & RAI, 2007; MURAKAMI et al., 2008). Além disso, o ácido elágico pode ser continuamente regenerado após a eliminação de dois radicais livres, um peroxil e um superóxido por ciclo. Isso aumenta os efeitos protetores do ácido elágico em baixas concentrações, o que torna um potente antioxidante (RÍOS et al., 2018).

Os benefícios da adição do extrato através da sua ação antioxidante foram demonstrados, contudo, o fato de que a oxidação lipídica na gema pode aumentar em níveis superiores a 571,43 mg/kg, evidencia um efeito pró-oxidante. Segundo Abd El-Hack et al. (2022), os fenólicos da dieta podem ser pró-oxidativos e citotóxicos em altas doses sob certas condições, pois as propriedades pró-oxidantes desses compostos dependem de vários fatores, entre os quais, a classe fenólica, seus níveis de concentração e características de solubilidade. Nesse contexto, o efeito pro-oxidativo da elevação dos níveis de compostos fenólicos na ração de poedeiras também tem sido relatado por outros pesquisadores. Braz et al. (2019), observaram que o nível de 0,75% de líquido da castanha de caju natural rico em ácidos anacárdicos resultou em menores valores de TBARS nas gemas, indicando efeito antioxidante, enquanto, o nível de 1% aumentou os valores de TBARS nas gemas, demonstrando o efeito pro-oxidante.

Em relação aos efeitos do tempo de armazenamento (Tabela 5), observou-se que a capacidade e atividade antioxidante dos ovos reduziu, enquanto, a oxidação lipídica das gemas aumentou com armazenamento dos ovos por 28 dias em temperatura ambiente. Como já mencionado as reações oxidativas nos ovos vão ocorrer durante o armazenamento aumentando a quantidade de compostos da peroxidação, como o malonaldeído, contribuindo para maior valor de TBARS (SĂRĂCILĂ et al., 2017). Na tentativa de evitar as reações de peroxidação os compostos fenólicos presentes nos ovos são utilizados como antioxidantes, reduzindo a sua concentração nos ovos, afetando negativamente a atividade e a capacidade antioxidante dos ovos armazenados, visto que já está demonstrado que essas características são diretamente influenciadas pela quantidade e tipo de compostos antioxidantes que estão presentes nos ovos (ABD EL-HACK et al., 2022).

Os resultados obtidos para o efeito do tempo de armazenamento sobre essas variáveis estão de acordo com relatos encontrados na literatura, uma vez que Omri et al. (2019), relataram que, tanto para os ovos do grupo controle quanto para das aves que receberam alimentos ricos em compostos fenólicos nas rações, houve redução na atividade e capacidade antioxidante dos ovos com o seu armazenamento, sendo esse efeito associado a redução de compostos fenólicos com o armazenamento dos ovos.

Os resultados obtidos na presente pesquisa evidenciaram que a adição do extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L contribuiu para aumentar a quantidade de compostos fenólicos totais nos ovos, aumentando a atividade e capacidade antioxidante e reduzindo a oxidação lipídica, tanto nos ovos frescos como nos armazenados por 28 dias em temperatura ambiente. Todavia, vale destacar que a adição do extrato foi capaz de reduzir os efeitos nocivos do tempo de armazenamento uma vez que foi possível obter melhores indicadores para

concentrações de fenólicos totais, capacidade e atividade antioxidante e oxidação lipídica das gemas quando comparados com os resultados da ração sem aditivo ou com BHT.

Certamente, os compostos com atividade antioxidante presentes no extrato etanólico *Syzygium cumini* L foram transferidos para os ovos, visto que em vários estudos tem sido demonstrado a presença em ovos dos compostos fenólicos adicionados nas rações das poedeiras, sendo que a quantidade nos ovos embora seja menor, algumas vezes, apresenta uma relação de proporcionalidade com nível da adição na ração. Todavia, existem variações no metabolismo dos compostos fenólico das rações em função de suas características químicas, interações com os outros componentes da ração e o tipo de ave (ABD EL-HACK et al., 2022), podendo influenciar nos seus efeitos sobre as aves e, também, na proporcionalidade da transferência dos compostos presentes no extrato para os produtos. Nesse contexto, a transferência dos compostos majoritários presentes no extrato etanólico *Syzygium cumini* L poderá ser comprovada e quantificada em novos estudos.

4.4 Conclusão

O extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L na ração de poedeiras leves aumenta a quantidade de compostos fenólicos, a capacidade e atividade antioxidantes dos ovos e reduz a oxidação lipídica das gemas em ovos frescos e armazenados por 28 dias, sendo o nível ótimo de inclusão estimado em 571,43 mg do extrato/kg de ração.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados encontrados neste trabalho, pode-se inferir que o extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L pode ser utilizado como antioxidante natural na alimentação de poedeiras leves, sem apresentar prejuízos ao desempenho produtivo e a oxidação lipídica no organismo das aves.

Foi constatado que o extrato utilizado na ração aumenta a quantidade de compostos fenólicos, a capacidade e atividade antioxidantes dos ovos frescos e armazenados por 28 dias em temperatura ambiente. Observa-se ainda que o extrato pode ser utilizado para diminuir a oxidação lipídica nas gemas de ovos, porém no nível ótimo de inclusão estimado em 571,43 mg do extrato /kg de ração, pois, em inclusões maiores que essa, podem ocasionar efeito pró-oxidante, o que foi evidenciado no atual estudo, visto que houve um aumento na oxidação lipídica das gemas nos níveis acima.

Dessa forma, o extrato etanólico da folha da *Syzygium cumini* L, possui grande potencial para uso na ração de poedeiras leves devido às suas propriedades funcionais e como substituinte de antioxidantes sintéticos que são deletérios a saúde humana e animal.

REFERÊNCIAS

- ABD EL-HACK, M. E., SALEM, H. M., KHAFAGA, A. F., SOLIMAN, S. M., EL-SAADONY, M. T. Impacts of polyphenols on laying hens' productivity and egg quality: A review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, [s.l.], v. 1, n. 20, 2022.
- ABDEL-MONEIM, A. M. E., SHEHATA, A. M., ALZAHRANI, S. O., SHAFI, M. E., MESALAM, N. M., TAHA, A. E., ABD EL-HACK, M. E. The role of polyphenols in poultry nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, [s.l.], v. 104, n. 6, p. 1851-1866, 2020.
- AFONSO, M. S., SANTANA, L. S., MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus offi cinalis L.*). **Nutrire: revista Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 129-148, 2010.
- AHMAD, S., YOUSAF, M., KAMRAN, Z., SOHAIL, M. U., TAHIR, M. N., KOUTOULIS, K. C., MANZOOR, A. Effects of supplementing different linoleic to α -linolenic acid ratios and vitamin A on performance and egg quality characteristics of laying hens during summer months. **Animal Nutrition and Feed Technology**, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 101-110, 2019.
- AKTER, Y., KASIM, A., OMAR, H., SAZILI, A. Q. Effect of storage time and temperature on the quality characteristics of chicken eggs. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, [s.l.], v. 12, n. 3-4, p. 87-92, 2014.
- ALIZADEH, R. M., MAHDAVI, A. H., RAHMANI, H. R., JAHANIAN, E. Effects of different levels of clove bud (*Syzygium aromaticum*) on yolk biochemical parameters and fatty acids profile, yolk oxidative stability, and ovarian follicle numbers of laying hens receiving different n-6 to n-3 ratios. **Animal Feed Science and Technology**, [s.l.], v. 206, p. 67-75, 2015.
- AL-HARTHI, M. A. The effect of natural and synthetic antioxidants on performance, egg quality and blood constituents of laying hens grown under high ambient temperature. **Italian Journal of Animal Science**, Italy, v. 13, n. 2, p. 3239, 2014.
- ALUWONG, T., KAWU, M., RAJI, M., DZENDA, T., GOVWANG, F., SINKALU, V., AYO, J. Effect of yeast probiotic on growth, antioxidant enzyme activities and malondialdehyde concentration of broiler chickens. **Antioxidants**, [s.l.], v. 2, n. 4, p. 326-339, 2013.
- ANDRADE, E. R., MELO-STERZA, F. A., SENEDA, M. M., ALFIERI, A. A. Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na reprodução e principais mecanismos antioxidantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 34, n. 2, p. 79-85, 2010.
- ARABSHAHI-DELOUEE, S.; UROOJ, A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica L.*) leaves. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 102, n. 4, p. 1233 – 1240, 2007.

ARRUDA, M. D., GOUVEIA, J. W. F., LISBOA, A. C. C., DE LIMA ABREU, A. C., DE ABREU, A. K. F. Avaliação da qualidade de ovos armazenados em diferentes temperaturas. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. e7681-e7681, 2019.

AYDIN, A., & BOLUKBASI, S. C. Effect of supplementation of hen diet with pennyroyal extract (*Mentha pulegium*) on performance, egg quality and yolk TBARS values. **Pakistan Journal of Zoology**, [s.l.], v. 52, n. 3, p. 1045, 2020.

AYYANAR, M., & SUBASH-BABU, P. Syzygium cumini (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, [s.l.], v. 2, n. 3, p. 240-246, 2012.

AYYANAR, M., SUBASH-BABU, P., IGNACIMUTHU, S. Syzygium cumini (L.) Skeels., a novel therapeutic agent for diabetes: folk medicinal and pharmacological evidences. **Complementary Therapies in Medicine**, [s.l.], v. 21, n. 3, p. 232-243, 2013.

BALYAN, U., VERMA, S. P., SARKAR, B. Phenolic compounds from Syzygium cumini (L.) Skeels leaves: Extraction and membrane purification. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, [s.l.], 12, 43-58, 2019.

BALIGA, M. S., BHAT, H. P., BALIGA, B. R. V., WILSON, R., PALATTY, P. L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam. (black plum): a review. **Food Research International**, [s.l.], v. 44, n. 7, p. 1776-1789, 2011.

BARBOSA, N. A. A., SAKOMURA, N. K., MENDONÇA, M. D. O., FREITAS, E. R., FERNANDES, J. B. K. Qualidade de ovos comerciais provenientes de poedeiras comerciais armazenados sob diferentes tempos e condições de ambientes. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 127-133, 2008.

BARBOSA, K. B. F., COSTA, N. M. B., ALFENAS, R. D. C. G., DE PAULA, S. O., MINIM, V. P. R., BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, Campinas, v 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARBOSA, V. C., GASPAR, A., CALIXTO, L. F. L.; AGOSTINHO, T. S. P. Stability of the pigmentation of egg yolks enriched with omega-3 and carophyll stored at room temperature and under refrigeration. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Minas Gerais, v. 40, p. 1540–1544, 2011.

BARREIROS, A. L., DAVID, J. M., DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, [s.l.], v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BATIHA, G. E. S., MAGDY BESHBIHY, A., WASEF, L., ELEWA, Y. H., EL-HACK, A., MOHAMED, E., TAHA, A. E., AL-SAGHEER, A. A., DEVKOTA, H. P., TUFARELLI, V. *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC.: A review on chemical constituents and biological activities. **Applied Sciences**, [s.l.], v. 10, n. 8, p. 2668, 2020.

BENAKMOUM, A., LARID, R., ZIDANI, S. Enriching egg yolk with carotenoids and phenols. **International Journal of Nutrition and Food Engineering**, [s.l.], v. 7, n. 7, p. 489-493, 2013.

BÖLÜKBASI, S.C., ERHAN, M.K.; KELES, M.S., KOÇYIĞIT. Effect of dietary vitamin E on the performance, plasma and egg yolk vitamin E levels and lipid oxidation of egg in heat stressed layers. **Journal of Applied Biological Sciences**, [s.l.], v.1, n. 3, p.19-13, 2007.

BONA, K. S., BELLÉ, L. P., SARI, M. H., THOMÉ, G., SCHETINGER, M. R., MORSCH, V. M., BOLIGON A., ATHAYDE M.L., PIGATTO A.S., MORETTO, M. B. Syzygium cumini extract decrease adenosine deaminase, 5' nucleotidase activities and oxidative damage in platelets of diabetic patients. **Cellular Physiology and Biochemistry**. [s.l.], v. 26, n. 4-5, p. 729-738, 2010.

BOONTHIUM, W., ISARIYODOM, S., TONGYAI, S., SINBUATHONG, N. Supplementation of crude extract from guava leaves (*Psidium guajava* Linn.) in laying hen diets on egg production performance and quality, cholesterol levels and oxidative stress. **In Proceedings of the 48th Kasetsart University Annual Conference, Kasetsart**, Thailand, 3-5 March, 2010. Subject: Animals, pp. 41-52. Kasetsart University.

BORELLA, J.; MARTINAZZO, E.G.; AUMONDE, T.Z., AMARANTE, L.; MORAES, D.M.; VILLELA, F.A. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel. **Acta Botanica Brasílica**. Brasília, v.26, n.2, p.415-420, 2012.

BOTSOGLOU, N. A., FLOROU-PANERI, P., CHRISTAKI, E.; FLETOURIS, D. J., SPAIS, A. B. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. **British poultry science**, [s.l.], v. 43, n. 2, p. 223-230, 2002.

BRAZ, N. M., FREITAS, E. R., TREVISAN, M. T. S., SALLES, R. P. R., CRUZ, C. E. B., FARIAS, N. N. P., WATANABE, P. H. Performance and egg quality of laying hens fed different dietary levels of cashew nut shell liquid. **South African Journal of Animal Science**, [s.l.], v. 49, p. 513-520, 2019.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, [s.l.], v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BULBUL, T., YESILBAG, D., ULUTAS, E., BIRICIK, H. A. K. A. N., GEZEN, S. S., BULBUL, A. Effect of myrtle (*Myrtus communis* L.) oil on performance, egg quality, some biochemical values and hatchability in laying quails. **Revue de Médecine Vétérinaire**, [s.l.], v. 165, n. 10, p. 280-288, 2014.

CAMPOS, M. T. G., & LEME, F. D. O. P. Estresse oxidativo: fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial. **Pubvet**, [s.l.], v. 12, p. 139, 2017.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and chemical toxicology**, [s.l.], v. 51, p. 15-25, 2013.

CHAGAS, V. T., FRANÇA, L. M., MALIK, S., PAES, A. M. D. A. Syzygium cumini (L.) skeels: a prominent source of bioactive molecules against cardiometabolic diseases. **Frontiers in pharmacology**, [s.l.], v. 6, p. 259, 2015.

CHEN, Y., HUANG, B., HE, J., HAN, L., ZHAN, Y., WANG, Y. In vitro and in vivo antioxidant effects of the ethanolic extract of Swertia chirayita. **Journal of Ethnopharmacology, Limerick**, [s.l.], v. 136, n. 2, p. 309–315, 2011.

CHERIAN, G., SELVARAJ, R. K., GOEGER, M. P., STITT, P. A. Muscle fatty acid composition and thiobarbituric acid-reactive substances of broilers fed different cultivars of sorghum. **Poultry Science**, [s.l.], v. 81, n.9, p. 1415-1420, 2002.

CIMRIN, T., AVSAROGLU, M. D., TUNCA, R. I., KANDIR, S. İ. N. A. N., AYASAN, T. Effects of the dietary supplementation of layer diets with natural and synthetic antioxidant additives on yolk lipid peroxidation and fatty acid composition of eggs stored at different temperatures and duration. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 21, n. 2, 2019.

CONEGLIAN, S. M., DA SILVA LIMA, B., DA SILVA, L. G., LAZZARI, C. M., SERRANO, R. D. C., TONELLO, C. L. Utilização de antioxidantes nas rações. **Pubvet**, [s.l.], v. 5, 2011.

COTINGUIBA, G. G., DO NASCIMENTO SILVA, J. R., DE SÁ AZEVEDO, R. R., ROCHA, T. J. M., DOS SANTOS, A. F. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **Journal of Health Sciences**, [s.l.], v. 15, n. 3, 2013.

CROCOMO, L. F., MARQUES FILHO, W. C., ALVARENGA, F. D. C. L., BICUDO, S. D. Produção de embriões in vitro: estresse oxidativo e antioxidantes. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, p. 470-479, 2012.

DENG, W., DONG, X. F., TONG, J. M., XIE, T. H., ZHANG, Q. Effects of an aqueous alfalfa extract on production performance, egg quality and lipid metabolism of laying hens. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, [s.l.], v. 96, n. 1, p. 85-94, 2011.

DRAPER, H. H., & HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. **Methods in enzymology**, [s.l.], v. 186, p. 421-431, 1990.

DURÁN, R. M. & PADILLA, R. B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, [s.l.], v. 44, n. 2, p.101-106, 1993.

EL-SENOUSEY, H. K., CHEN, B., WANG, J. Y., ATTA, A. M., MOHAMED, F. R., NIE, Q. H. In ovo injection of ascorbic acid modulates antioxidant defense system and immune gene expression in newly hatched local Chinese yellow broiler chicks. **Poultry science**, [s.l.], v. 97, n. 2, p. 425-429, 2018.

ESHWARAPPA, R. S. B., IYER, R. S., SUBBARAMAIAH, S. R., RICHARD, S. A., DHANANJAYA, B. L. Antioxidant activity of Syzygium cumini leaf gall extracts. **BioImpacts: BI**, [s.l.], v. 4, n. 2, p. 101, 2014.

ESTEVEZ, M., RAMÍREZ, R., VENTANAS, S., CAVA, R. Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté. **LWT-Food Science and Technology**, [s.l.], v. 40, n. 1, p. 58-65, 2007.

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

FELTES, M., CORREIA, J. F., BEIRÃO, L. H., BLOCK, J. M., NINOW, J. L., SPILLER, V. R. Alternatives for adding value for the fish processing wastes. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 6, p. 669-677, dez. 2010.

FERREIRA, A. L. A. & MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, I. C., & ABREU, R. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Bioanálise**, [s.l.], p. 32-39, 2007.

FOLIN, C. & CIOCALTEU, V. Tyrosine and tryptophan determination in protein. **The Journal of Biological Chemistry**. [s.l.], v.73, n.2, p.627-650, 1927.

FOOTE, C.S, CHANG, Y., DENNY, R.W. Chemistry of singlet oxygen. X. Carotenoid quenching parallels biological protection. **J Am Chem Soc**. [s.l.], v.92, v.17, p. 5216-8, 1970.

FREITAS, E. R., SAKOMURA, N. K., GONZALEZ, M. M., BARBOSA, N. A. A. Comparação de métodos de determinação da gravidade específica de ovos de poedeiras comerciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 509-512, 2004.

FREITAS, E. R., BORGES, A. S., TREVISAN, M. T. S., CUNHA, A. L., BRAZ, N. M., WATANABE, P. H., NASCIMENTO, G. A. J. Extratos etanólicos da manga como antioxidantes na alimentação de poedeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 714-721, 2013.

FREITAS, E. R., FERNANDES, D. R., SOUZA, D. H., DANTAS, F. D., SANTOS, R. C., OLIVEIRA, G. B., WATANABE, P. H. Effect of *Syzygium cumini* leaves on laying hens performance and egg quality. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3, p. 2479-2484, 2017.

GALAMATIS, D., PAPADOPOULOS, G. A., LAZARI, D., FLETOURIS, D., PETRIDOU, E., ARSENOS, G. I., FORTOMARIS, P. Effects of Dietary Supplementation of *Salvia officinalis* L. in Organic Laying Hens on Egg Quality, Yolk Oxidative Stability and Eggshell Microbiological Counts. **Animals**, [s.l.], v, 11, n. 9, p. 2502, 2021.

GARCIA, E. R. M., ORLANDI, C. C. O., DE OLIVEIRA, C. A. L., DA CRUZ, F. K., DOS SANTOS, T. M. B., OTUTUMI, L. K. Qualidade de ovos de poedeiras semipesadas armazenados em diferentes temperaturas e períodos de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 11, v. 2, 2010.

GARCIA, C. E. R., BOLOGNESI, V. J., DIAS, J. D. F. G., MIGUEL, O. G., COSTA, C. K. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1510-1517, 2012.

GENOVESE, M. I., DA SILVA PINTO, M., DE SOUZA SCHMIDT GONÇALVES, A. E., LAJOLO, F. M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, Spain, v. 14, n. 3, p. 207-214, 2008.

GIAMPIETRO, A., SCATOLINI, A. M., BOIAGO, M. M., CORÓ, D. M. O., SOUZA, H. B. A., SOUZA, P. A., PIZZOLANTE, C. C. Estudo da metodologia de TBARS em ovos. **Revista do Avisite**, [s.l.], v. 13, 18-18, 2008.

GONÇALVES, J., SILVA, G. C. O., CARLOS, L. A. Compostos bioativos em flores comestíveis. **Biológicas & Saúde**, Campos dos Goytacazes, v. 9, n. 29, 2019.

GROBAS, S., MÉNDEZ, J., BOTE, C.L., DE BLAS, C., MATEOS, G.G. Effect of vitamin E and A supplementation on egg yolk α -tocopherol concentration. **Poultry Science**, [s.l.], v.81, p.376-381, 2002.

GULTEPE, E. E., IQBAL, A., CETINGUL, I. S., UYARLAR, C., OZCINAR, U., BAYRAM, I. Effect of *Myrtus communis* L. Plant Extract as a Drinking Water Supplement on Performance, Some Blood Parameters, Egg Quality and Immune Response of Older Laying Hens. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, [s.l.], v. 26, n. 1, 2020.

HALLIWELL B. Antioxidants in human health and disease. **Annu Rev Nutr**. [s.l.], v.16, p. 33-50, 1996.

HASANUZZAMAN, M., ISLAM, W., ISLAM, M. B. Phytochemical screening of *Syzygium cumini* (L.) extracts in different solvents. **Journal of Bio-Science**, [s.l.], v. 24, p. 11-18, 2016

HAUGH, R.R. The Haugh unit for measuring egg quality. **United States Egg Poultry Magazine**, Chicago, v.43, p.552-555, 1937.

HERVERT-HERNANDEZ, D., PINTADO, C.; ROTGER, R., GONI, I. Stimulatory effect of grape pomace polyphenols on *Lactobacillus acidophilus* growth. **International Journal of Food Microbiology**. [s.l.], v. 136, p. 119–122, 2009.

HU, R., HE, Y., AROWOLO, M. A., WU, S., HE, J. Polyphenols as potential attenuators of heat stress in poultry production. **Antioxidants**, [s.l.], v, 8, n. 3, p. 67, 2019.

HUANG, X. & AHN, D. U. Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. **Food science and biotechnology**, [s.l.], v. 28, p. 1275-1285, 2019.

HUBER, P. C., ALMEIDA, W. P., FÁTIMA, Â. D. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008. [s.l.],

HUBER, K., DE QUEIROZ, J. H., MOREIRA, A. V. B., RIBEIRO, S. M. R. Caracterização química do resíduo agroindustrial da manga Ubá (*Mangifera indica* L.): uma perspectiva para

a obtenção de antioxidantes naturais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Curitiba, v. 6, n. 1, 2012.

IMAI, H. & NAKAGAWA, Y. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. **Free Radic Biol Med**. [s.l.], v. 34, n. 2, p.145-69, 2003.

JACQUES, A. C., & ZAMBIASI, R. C. Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus* spp). **Semina: Ciências Agrárias**, Maringá, v. 32, n.1, p. 245-259, 2011.

JAGETIA, G. C., & BALIGA, M. S. The evaluation of nitric oxide scavenging activity of certain Indian medicinal plants in vitro: a preliminary study. **Journal of Medicinal Food**, [s.l.], v. 7, n. 3, p. 343-348, 2004.

JOHNSON, M. L., DAHIYA, J. P., OLKOWSKI, A. A., CLASSEN, H. L. The effect of dietary sinapic acid (4-hydroxy-3, 5-dimethoxy-cinnamic acid) on gastrointestinal tract microbial fermentation, nutrient utilization, and egg quality in laying hens. **Poultry Science**, [s.l.], v. 87, n. 5, p. 958-963, 2008.

KANERIA, M., BARAVALIA, Y., VAGHASIYA, Y., CHANDA, S. Determination of antibacterial and antioxidant potential of some medicinal plants from Saurashtra region, India. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, [s.l.], v. 71, n. 4, p. 406, 2009.

KANERIA, M., & CHANDA, S. Evaluation of antioxidant and antimicrobial capacity of *Syzygium cumini* L. leaves extracted sequentially in different solvents. **Journal of Food Biochemistry**, [s.l.], v. 37. n. 2, p. 168-176, 2013.

KARA, K., GÜÇLU, B. K., BAYTOK, E., SENTÜRK, M. Effects of grape pomace supplementation to laying hen diet on performance, egg quality, egg lipid peroxidation and some biochemical parameters. **Journal of Applied Animal Research**, [s.l.], v. 44, n. 1, p. 303–310, 2016.

KHARAT, S. N., ANSARI, N., MENDHULKAR, V. D. HPTLC screening for Flavonoids content in leaf extracts of *Syzygium cumini* (Linn.) and its Antimicrobial activity. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, [s.l.], v. 13, n. 6, p. 2720-2726, 2020.

KOTHARI, D., OH, J. S., KIM, J. H., LEE, W. D., KIM, S. K. Effect of dietary supplementation of fermented pine needle extract on productive performance, egg quality, and serum lipid parameters in laying hens. **Animals**, [s.l.], v. 11, n. 5, p. 1475, 2021.

KSHIRSAGAR, R., & UPADHYAY, S. Free radical scavenging activity screening of medicinal plants from Tripura. **Natural Producto Radiance**, [s.l.], v. 8, n. 2, p. 177-122, 2009.

KUMAR, A., & KALAKOTI, M. Phytochemical and antioxidant screening of leaf extract of *Syzygium cumini*. **International Journal of Advanced Research**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 371-378, 2015.

LAKHANPAL, P., RAI, D. K. Quercetin: a versatile flavonoid. **Internet Journal of Medical Update**, [s.l.], v. 2, n. 2, p. 22-37, 2007.

- LANA, S. R. V., LANA, G. R. Q., SALVADOR, E. D. L., LANA, Â. M. Q., CUNHA, F. S. A., MARINHO, A. L. Qualidade de ovos de poedeiras comerciais armazenados em diferentes temperaturas e períodos de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 18, n. 1, p. 140-151, 2017.
- LEE, M. H., CHO, E. J., CHOI, E. S., SOHN, S. H. The effect of storage period and temperature on egg quality in commercial eggs. **Korean Journal of Poultry Science**, [s.l.], v. 43, n. 1, p. 31-38, 2016.
- LEESON, S. & SUMMERS, J. D. **Commercial Poultry Nutrition**, second ed. Guelph, University Books, Canada, 1997.
- LOETSCHER, Y., KREUZER, M., MESSIKOMMER, R. E. Late laying hens deposit dietary antioxidants preferentially in the egg and not in the body. **Journal of Applied Poultry Research**, [s.l.], v. 23, n. 4, p. 647-660, 2014.
- LIPINSKI, K., MAZUR, M., ANTOSZKIEWICZ, Z., PURWIN, C. Polyphenols in monogastric nutrition-A review. **Annals of Animal Science**, [s.l.], v. 17, n. 1, p. 41, 2017.
- LOGUERCIO, A. P., BATTISTIN, A., VARGAS, A. C. D., HENZEL, A., WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.
- LOPES, R. M., OLIVEIRA, T. D., NAGEM, T. J.; PINTO, A. D. S. Flavonóides. **Biotecnologia Ciência& Desenvolvimento**, [s.l.], v. 3, n. 14, p. 18-22, 2010.
- LUNA, A., LABAQUE, M. C., ZYGADLO, J. A., MARIN, R. H. Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. **Poultry Science**, [s.l.], v. 89, n. 2, p. 366-370., 2010.
- MAIA, I. R. O., TREVISAN, M. T. S., DE V. SILVA, M. G., KLIKA, K. D., DE BRITO, E., SILVA, L. M. A. E., OWEN, R. W. Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in *Senna splendida* from the Northeast of Brazil. **Natural Product Communications**, [s.l.], v. 13, n. 6, 2018.
- MANCIO, M., AUED-PIMENTEL, S., MANCINI-FILHO, J. Estabilidade dos ácidos graxos poliinsaturados presentes em fórmulas infantis comerciais. **Brazil Journal of Food Technology**. São Paulo, v. 14, n. 2, p. 145-53, 2011.
- MARGARET, E., SHAILAJA, A. M., RAO, V. V. Evaluation of antioxidant activity in different parts of *Syzygium cumini* (Linn.). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [s.l.], v. 4, n. 9, p. 372-379, 2015.
- MARTÍNEZ-FLÓREZ, S., GONZÁLEZ-GALLEGO, J., CULEBRAS, J. M., TUÑÓN, M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición hospitalaria**, [s.l.], v.17, n. 6, p. 271-278, 2002.

MARTÍNEZ, Y., RODRÍGUEZ, R., PUPO, G. E., ROSABAL, O., COLMO, C., VALDIVIÉ, M. Phytobiotic effect of Psidium guajava leaf powder on productivity and quality of the egg of laying hens. **Cuban Journal of Agricultural Science**, Cuba, v. 5, n. 4, 2020.

MAZIERO G.C., BAUNWART C. TOLEDO M.C.F. Estimates of the theoretical maximum daily intake of phenolic antioxidants BHA, BHT and TBHQ. **Brazil. Food Additives & Contaminants**. [s.l.], v. 18, p. 365-373, 2001.

MELO, E. D. A. & GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MENEZES, P.C., LIMA, E.R., MEDEIROS, J.P.D., OLIVEIRA, W. N. K. D., EVÊNCIO-NETO, J. Egg quality of laying hens in different conditions of storage, ages and housing densities. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Minas Gerais, v.41, n.9, p.2064-2069, 2012.

MILLER, N. J., RICE-EVANS, C., DAVIES, M. J., GOPINATHAN, V., MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical science**, [s.l.], v. 84, n. 4, p. 407-412, 1993.

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

MOREL, I., LESCOAT, G., COGREL, P., SERGENT, O., PASDELOUP, N., BRISSOT, P., CILLARD, P., CILLARD, J. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. **Biochemical pharmacology**, [s.l.], v. 45, n. 1, p. 13-19, 1993.

MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins - a review. **Animal Feed Science Technology**. [s.l.], v.91, n.1-2, p.3-20, 2001.

MURAKAMI, A., ASHIDA, H., TERAQ, J. Multitargeted cancer prevention by quercetin. **Cancer letters**, [s.l.], v. 269, n. 2, p. 315-325, 2008.

NAHAR, L., RIPA, F. A., ROKONUZZAMAN, A. B. M., AL-BARI, M. A. A. Investigation on antioxidant activities of six indigenous plants of Bangladesh. **Journal of Applied Sciences Research**, [s.l.], v. 5, n. 12, p. 2285-2288, 2009.

NAIR, V., & G. A. TURNER. The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: structure of the adduct with malondialdehyde. **Lipids**, [s.l.], v.19, p. 804-805, 1984.

NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. **Food chemistry**, 3rd ed. New York: Marcel Dekker, p.225-319, 1996.

NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, p.139-244, 1985.

NIEVA-ECHEVARRÍA B., MANZANOS M.J., GOICOECHEA E. GUILLÉN M.D. 2, 6-Di-tert-butyl- hydroxytoluene and its metabolites in foods. **Comprehensive Reviews. Food Science and Food Safety**, [s.l.], v. 14, p. 67-80, 2015.

NORDBERG, J., & ARNÉR, E. S. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free radical biology and medicine**, [s.l.], v. 31, n. 11, p. 1287-1312, 2001.

NUNES, K. C., EYNG, C., PINTRO, P. T., GARCIA, R. G., MURAKAMI, A. E., VITAL, A. C., NESELLO, P. O. Dietary inclusion of dehydrated bociuva pulp increases the antioxidant potential of quail eggs. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, [s.l.], v. 103, n. 1, p. 64-71, 2019.

OLAWUWO, O. S., ABDALLA, M. A., MÜHLING, K. H., MCGAW, L. J. Proximate analysis of nutrients and in vitro radical scavenging efficacy in selected medicinal plant powders with potential for use as poultry feed additives. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 146, p. 103-110, 2022.

OLIVEIRA, F.G; ROSSI, C.L; DE OLIVEIRA, M.G; SAAD, M.J; VELLOSO, L.A. Effect of vitamin E supplementation on antibody levels against malondialdehyde modified LDL in hyperlipidemic hamsters. **Cardiovasc Res**. [s.l.], v.47, n. 3, p. 567-73, 2000.

OLIVEIRA, G. R., RACANICCI, A. M. C., TANURE, C. B. G. S., DE LIMA, C. B., DE SOUZA, T. C., MIGOTTO, D. L., STRINGHINI, J. H. Adição de óleos de copaíba (*Copaifera langisodorffii*) e sucupira (*Pterodon emarginatus*) na alimentação de poedeiras: estabilidade lipídica de gema de ovos armazenados em diferentes temperaturas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [s.l.], v. 52, n. 4, p. 325-332, 2015.

OMRI, B., ALLOUI, N., DURAZZO, A., LUCARINI, M., AIELLO, A., ROMANO, R., ABDOULI, H. Egg yolk antioxidants profiles: Effect of diet supplementation with linseeds and tomato-red pepper mixture before and after storage. **Foods**, [s.l.], v. 8, n. 8, p. 320, 2019.

PEPATO, M.T., FOLGADO, V.B.B., KETTELHUT, I.C., BRUNETTI, I.L. Lack of antidiabetic effect of a *Eugenia jambolana* leaf decoction on rat streptozotocin diabetes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 34, p. 389-395, 2001.

PERUMALLA, A.V.S. & NAVAM. S. H. Green tea and grape seed extracts — Potential applications in food safety and quality. **Food Research International**. [s.l.], v. 44, p. 827–839, 2011.

PISSINATI, A., OBA, A., YAMASHITA, F., SILVA, C. A., PINHEIRO, J. W., ROMAN, J. M. M. Internal quality of eggs subjected to different types of coating and stored for 35 days at 25°C. **Semina: Ciências Agrárias**, Maringá, v.35, n.1, p.531-540, 2014.

PITA, M. C. G., PIBER NETO, E., NAKAOKA, L. M., MENDONÇA JUNIOR, C. X. D. 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**, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 25-31, 2004.

POKORNÝ, J. Natural antioxidants for food use. **Trends in Food Science and Technology**, [s.l.], v. 2, n. 9, p. 223-227, 1991.

POWERS, S. K., DUARTE, J., KAVAZIS, A. N., TALBERT, E. E. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. **Exp Physiol**. [s.l.], v. 95, n. 1, p. 1-9, 2009.

RAMALHO, V. C., & JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química nova**, [s.l.], p. 755-760, 2006.

RAMOS, I. L., & BANDIOLA, T. M. B. Phytochemical Screening of *Syzygium Cumini* (Myrtaceae) Leaf Extracts Using Different Solvents of Extraction. **Der Pharmacia Lettre**, [s.l.], v. 9, n. 2, p. 74-78, 2017.

REDDY, L. J., & JOSE, B. E. E. N. A. Evaluation of antibacterial and DPPH radical scavenging activities of the leaf extracts and leaf essential oil of *Syzygium cumini* Linn. from South India. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 5, n. 3, p. 1-5, 2013.

RIBEIRO S. M., QUEIROZ J. H., PELÚZO M. C. G., COSTA N. M. B., MATTA S. L. P., QUEIROZ M. E. L. R. The formation and the effects of the reactive oxygen species in biological media. **Bioscience Journal**, [s.l.], v. 12. P. 133-149, 2005.

RÍOS, J. L., GINER, R. M., MARÍN, M., RECIO, M. C. A pharmacological update of ellagic acid. **Planta medica**, [s.l.], v. 84, n. 15, p. 1068-1093, 2018.

RODRIGUES, F. P. M. Importância dos radicais livres de oxigênio no período neonatal. **J Pediatr**, [s.l.], v. 74, n. 2, p. 91-8, 1998.

ROSTAGNO, H. S., ALBINO, L. F. T., HANNAS, M. I., DONZELE, J. L., SAKOMURA, N. K., PERAZZO, F. G., BRITO, C. O. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Departamento de Zootecnia-UFV, Viçosa, MG, BR, 488 p. 2017.

RUAN, Z. P., ZHANG, L. L., LIN, Y. M. Evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium cumini* leaves. **Molecules**, [s.l.], v. 13, n. 10, p. 2545-2556, 2008.

RUFINO, M. D. S. M., ALVES, R. E., DE BRITO, E. S., DE MORAIS, S. M., SAMPAIO, C. D. G., PÉREZ-JIMENEZ, J., SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

RUPASINGHE, H. V., RONALDS, C. M., RATHGEBER, B., ROBINSON, R. A. Absorption and tissue distribution of dietary quercetin and quercetin glycosides of apple skin in broiler chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 90, n. 7, p. 1172-1178, 2010.

SAEED, M., NAVEED, M., ARAIN, M. A., ARIF, M., ABD EL-HACK, M. E., ALAGAWANY, M., SUN, C. Quercetin: Nutritional and beneficial effects in poultry. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 73, n. 2, p. 355-364, 2017.

SAKOMURA, N.K. & ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 283p. 2007.

SANTOS, A. F., DA SILVA, A. S., GALLI, G. M., PAGLIA, E. B., DACOREGGIO, M. V., KEMPKA, A. P., PAIANO, D. Addition of yellow strawberry guava leaf extract in the diet of laying hens had antimicrobial and antioxidant effect capable of improving egg quality. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 29, p. 101788, 2020.

SĂRĂCILĂ, M., PANAIT, T. D., UNTEA, A., ROPOTĂ, M., VLAICU, P. A., ȘOICA, C., MITOI, M. Evaluation of oxidation stability and antioxidant activity in eggs enriched in ω -3 polyunsaturated fatty acids. **Archiva Zootechnica**, [s.l.], v. 20, n. 1, 2017.

SAS Institute. **SAS Users guide: Statistics**. Version 8. Carry, NC, 2000.

SAUVEUR, B. **El Huevo para Consumo: Bases Productivas**. Barcelona: Aedos Editorial, 1993. 377p.

SCHNEIDER, C. D. & OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

SHAHID, M. S., ZHOU, S., NIE, W., WANG, L., LV, H., YUAN, J. Phytogetic Antioxidants Prolong n-3 Fatty Acid-Enriched Eggs' Shelf Life by Activating the Nrf-2 Pathway through Phosphorylation of MAPK. **Foods**, [s.l.], v. 11, n. 20, p. 3158, 2022.

SHAHIDI, F., JANITHA, P.K., WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s.l.], v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SHAHRYAR, H. A., SALAMATDOUST, R., CHEKANI-AZAR, S., AHADI, F., VAHDATPOOR, T. Lipid oxidation in fresh and stored eggs enriched with dietary ω 3 and ω 6 polyunsaturated fatty acids and vitamin E and A dosages. **African Journal of Biotechnology**, [s.l.], n. 9, n. 12, 2010.

SHANG, H., ZHANG, H., GUO, Y., WU, H., ZHANG, N. Effects of inulin supplementation in laying hens diet on the antioxidant capacity of refrigerated stored eggs. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 153, p. 1047-1057, 2020.

SIDDIQUE, S., SHAHZAD, N., GHOU, T., ANDLEEB, S. In vitro screening of herbal extracts and antibiotics against bacteria isolated from fish products at retail outlets. **Microbiology Research Journal International**, [s.l.], p. 19-31, 2013.

SILVA, A. A. D. & GONÇALVES, R. C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 4, p. 994-1002, 2010.

SILVA, R.C., NASCIMENTO, J.W.B., OLIVEIRA, D.L., FURTADO, D.A. Termohigrometria no transporte e na qualidade de ovos destinados ao consumo humano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.19, p. 668-673, 2015.

- SMET, K., RAES, K., SMET, S. Novel approaches in measuring the antioxidative potencial of animal feeds: the FRAP and DPPH methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 86, p. 2412 – 2416, 2006.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição**, [s.l.], v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.
- SOUSA SABINO, L. B., DE BRITO, E. S., DA SILVA JÚNIOR, I. J. Jambolan *Syzygium jambolanum*. In **Exotic Fruits**. Academic Press, p. 251-256, 2018.
- SURAI, P. F.: **Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction**. Nottingham University Press, Nottingham, UK, 2002.
- SURAI, P. F. Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, [s.l.], v. 98, n. 1, p. 19-31, 2014.
- SURAI, P. F. & FISININ, V. I. Vitagenes in poultry production: Part 1. Technological and environmental stresses. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 72, p. 721–733, 2016a.
- SURAI, P. F. & FISININ, V. I. Vitagenes in poultry production: Part 2. Technological and environmental stresses. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 72, p. 761–772, 2016b.
- SWAMI, S. B., THAKOR, N. S. J., PATIL, M. M., HALDANKAR, P. M. Jamun (*Syzygium cumini* (L.)): A Review of its food and medicinal uses. **Food and Nutrition Sciences**, [s.l.], v. 3, p. 1100-1117, 2012.
- TAKEMOTO, E., FILHO, J.T., GODOY, H.T. Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por clae/uv. **Química Nova**, [s.l.], v.32, n., p.1189-1194, 2009.
- TORKI, M., MOHEBBIFAR, A., MOHAMMADI, H. Effects of supplementing hen diet with *Lavandula angustifolia* and/or *Mentha spicata* essential oils on production performance, egg quality and blood variables of laying hens. **Veterinary Medicine and Science**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 184-193, 2021.
- ULUSOY, H. G., & SANLIER, N. A minireview of quercetin: from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. **Critical reviews in food science and nutrition**, [s.l.], v. 60, n. 19, p. 3290-3303, 2020.
- UNTEA, A. E., VARZARU, I., PANAITE, T. D., GAVRIS, T., LUPU, A., ROPOTA, M. The effects of dietary inclusion of bilberry and walnut leaves in laying hens' diets on the antioxidant properties of eggs. **Animals**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 191, 2020.
- VASCONCELOS, S. M. L., GOULART, M. O. F., MOURA, J. B. D. F., MANFREDINI, V., BENFATO, M. D. S., KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química nova**, [s.l.], v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.
- VEBER, J., PETRINI, L. A., ANDRADE, L. B., & SIVIERO, J. Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de

Jambolão (*Syzygium cumini* L.). **Revista Brasileira de plantas medicinais**, [s.l.], v. 17, n. 2, p. 267-273, 2015.

VOLJČ, M., LEVART, A., ŽGUR, S., SALOBIR, J. The effect of α -tocopherol, sweet chestnut wood extract and their combination on oxidative stress in vivo and the oxidative stability of meat in broilers. **British poultry science**, [s.l.], v. 54, n. 1, p. 144-156, 2013.

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

YOUNG, J. F., J. STAGSTED, S. K., JENSEN, A., KARLSSON, P., HENCKEL. Ascorbic acid, alpha-tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. **Poultry Science**, [s.l.], v. 82, p. 1343-1351, 2003.