



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

DANILO RODRIGUES FERNANDES

**EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA EM RAÇÕES PARA
POEDEIRAS COMERCIAIS**

FORTALEZA

2017

DANILO RODRIGUES FERNANDES

EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA EM RAÇÕES PARA
POEDEIRAS COMERCIAIS

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

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

F399e Fernandes, Danilo Rodrigues.
Extrato etanólico do caroço da manga em rações para poedeiras comerciais / Danilo Rodrigues Fernandes. –
2017.
112 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.

Coorientação: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe.

1. Antioxidante natural. 2. Desempenho. 3. Efeitos fisiológicos. 4. Estresse oxidativo. 5. Mangiferina. I.
Título.

CDD 636.08

DANILO RODRIGUES FERNANDES

EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA EM RAÇÕES PARA
POEDEIRAS COMERCIAIS

Tese submetida à coordenação do Programa de
Doutorado Integrado em Zootecnia da
Universidade Federal do Ceará como requisito
parcial para obtenção do título de Doutor em
Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal.

Apresentada em: 12/05/2017.

BANCA EXAMINADORA

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

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

Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello (Conselheiro)
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Dra. Rosa Patrícia Ramos Salles (Conselheira)
BioLab –Clínica e Laboratório Veterinário LTDA.

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

“O otimista é um tolo. O pessimista um chato.
Bom mesmo é ser um realista esperançoso.”
“O sonho é que leva a gente para a frente. Se a
gente for seguir a razão, fica aquietado,
acomodado.”

Ariano Suassuna

Ao meu avô, **Genário Alves da Silva** (*in memoriam*), o maior exemplo do que é ser um homem de valor. Seus ensinamentos e conselhos serão inesquecíveis, pois precisei de cada um deles para me tornar a pessoa que sou hoje.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, continuarei sempre agradecendo a Ele em primeiro lugar, por todas as oportunidades que me foram proporcionadas e, principalmente, por me dar força e sabedoria para aproveitá-las.

Aos meus pais, Alzenira Fernandes e Elias Fernandes, pela educação que me proporcionaram, dentro e fora de casa, pelos esforços que não foram medidos em momento algum para que um dia eu pudesse chegar aqui, pelos ensinamentos, por sempre estarem presentes, pelo companheirismo, amor e exemplo de família.

À minha irmã, Domênica Fernandes, pela torcida e por presenciar todos os momentos da minha vida, participando em alguns momentos diretamente desse processo, auxiliando nas traduções.

Aos meus avós Genário Alves (*in memoriam*) e Eulália Fernandes, por serem presentes e contribuírem com minha educação. Pelo amor e por me incluírem sempre em suas orações.

À Marcelle Craveiro, minha noiva. O presente mais valioso que Deus pode me dar nessa caminhada, pessoa fundamental para a realização deste trabalho, que participou ativamente de TODAS as etapas deste projeto. Serei eternamente grato e orgulhoso por sempre se fazer presente, por nunca me deixar desanimar com suas “palavras de coragem”, confiança e fé.

À Família Craveiro de Melo, Sr. Melo, Sra. Ana Craveiro e Emanuelle Craveiro, pelo acolhimento e toda a dedicação e o amor que me proporcionam. Por, desde o primeiro momento, me fazerem sentir realmente membro da família, sempre me apoiando, incentivando e encorajando na realização dos nossos sonhos.

À todos os meus familiares, pela cumplicidade, incentivo e ajuda dedicados nesse períodos.

À minha prima Célia Fernandes, seu esposo José Maria e sua filha Priscylla Fernandes pelo apoio e consideração durante a minha estada em Fortaleza. Serei eternamente grato.

Ao professor e orientador, Dr. Ednardo Rodrigues Freitas, pela confiança, credibilidade e apoio durante a convivência no trabalho, por partilhar o seu conhecimento sempre que solicitado, por ser um exemplo de profissional e pela oportunidade dos cursos de mestrado e doutorado. Agradeço a confiança depositada no meu trabalho.

Ao professor e Co-orientador, Dr. Pedro Henrique Watanabepor estar sempre presente e disposto a ajudar. Pela colaboração e ensinamentos indispensáveis para a conclusão deste trabalho. Tornando-se uma referência pessoal e profissional ao qual, também, procuro me espelhar e seguir seus passos.

Ao professor Dr. Alex Martins Varela de Arruda, pelo incentivo inicial, responsável pela minha inserção na pesquisa com nutrição de aves, ao qual sou grato pelos conselhos dados.

Ao professor Dr. Germano Augusto Jerônimo do Nascimento, pelos conselhos e colaborações para a realização deste trabalho e por sua disponibilidade sempre que solicitado.

À professora Dra. Silvana Cavalcante Bastos Leite, pelos conselhos e colaborações para a realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello, por sua disponibilidade e interesse em colaborar para engrandecimento deste trabalho.

À Dra. Rosa Patrícia Ramos Salles, pela colaboração durante o experimento na coleta de sangue das aves e por sua disponibilidade em ajudar.

Ao Laboratório de Produtos Naturais (LPN) do Departamento de Química da UFC, em especial a professora Dra. Teresa Trevisan e, principalmente, a Dra. Irvila Ricarte pela colaboração dada nas análises químicas e pela amizade.

Ao Laboratório de Reprodução do Departamento de Zootecnia.

Aos alunos de graduação que fazem parte do Setor de Avicultura da UFC, por toda ajuda durante o tempo em que este trabalho foi realizado, pela convivência e pelos momentos de esforço e diversão que não serão esquecidos. Em especial Marcelle Craveiro, Edibergue Oliveira, Juliana Oliveira, Juliana Maia, Daniel, Ingrid e Ádamos, que participaram ativamente das atividades experimentais.

Aos colegas do programa de pós-graduação em Zootecnia dos Setores de Avicultura e Suinocultura, pela convivência. Os que já concluíram: Diego Dantas, Thales Marcel, Carlos Eduardo, Rafael Nepomuceno, Thalles Ribeiro, Carlos Weiber, Thaís Tavares, Nádia Braz. E os que continuam: Marcelle Craveiro, Edibergue Oliveira, Herbenson Marques, Germana Aguiar, Davyd Herik, Heiciane Costa, Nadja Farias pela convivência. Em especial à Lina Araújo, por todos esses anos de parceria e luta diária na realização desse trabalho, seja no campo, em laboratório ou mesmo pesquisando e escrevendo. Foram dias difíceis que ficarão marcados como batalhas dessa guerra que estamos por vencer. Grato também ao seu esposo, Ênio Campos, por sua colaboração direta nas atividades.

Aos funcionários do Setor de Avicultura da UFC representado principalmente por Isáias e Maninho pela ajuda e contribuição para a execução do experimento.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao Departamento de Zootecnia e todos os seus professores e funcionários, pelo incentivo e valorização a minha formação profissional e a todos que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras, sobre: o desempenho e a qualidade interna e externa dos ovos frescos, a capacidade antioxidante e estabilidade lipídica dos ovos de poedeiras comerciais, as características de qualidade interna e externa dos ovos, incluindo a estabilidade dos lipídeos da gema e os indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos submetidos a diferentes condições de temperatura e tempo de armazenamento, os efeitos fisiológicos. Foram utilizadas 448 poedeiras comerciais Dekalb White, com 25 semanas de idade, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e oito repetições de oito aves cada. Os tratamentos consistiram em sete rações formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas: T1 – ração sem adição de antioxidante; T2 – ração com adição de 200ppm do antioxidante sintético (BHT); T3 – ração com 200ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T4 – ração com 400ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T5 – ração com 600ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T6 – ração com 800ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T7 – ração com 1000ppm de extrato etanólico do caroço da manga. A utilização do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais não influenciou significativamente nenhuma das variáveis avaliadas para desempenho e qualidade dos ovos. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a quantidade de compostos fenólicos e peroxidação lipídica nas gemas dos ovos. Contudo, observou-se diferença significativa para atividade antioxidante *in vitro* das gemas avaliadas pelos métodos DPPH e ABTS. Considerando-se os níveis ótimos de 750ppm e 530ppm para os métodos de DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), respectivamente, ficou evidente o efeito pró-oxidante de níveis superiores a este. As características e a qualidade dos ovos frescos de poedeiras não foram afetadas. No entanto, observou-se melhores resultados de formação e estabilidade da espuma para ovos armazenados sob refrigeração das aves alimentadas com as rações contendo 400, 800 e 1000ppm do extrato. O hemograma, os parâmetros bioquímicos, os compostos fenólicos e a atividade antioxidante do sangue das poedeiras não foram influenciados pelos tratamentos. Entretanto, houve efeito quadrático para peroxidação lipídica do sangue, indicando redução nos valores com adição do extrato na ração atingindo o mínimo valor com a dose estimada de 690ppm e aumento em doses superiores a esta. Para atividade da glutatona peroxidase nos órgãos das poedeiras, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos. Sendo assim, o resíduo do caroço da manga obtido do processamento da

fruta, pode ser utilizado para a produção de extratos vegetais naturais com atividade antioxidante, possibilitando sua utilização em substituição aos antioxidantes sintéticos, na alimentação de poedeiras comerciais que conseqüentemente produzirão alimentos mais saudáveis para o consumo humano.

Palavras-chave: Antioxidante natural. Armazenamento. Desempenho. Efeitos fisiológicos. Estresse oxidativo. Mangiferina.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of the inclusion of the ethanolic extract of the mango seed in the laying hen ration on: the performance and internal and external quality of fresh eggs, the antioxidant capacity and lipid stability of the eggs of commercial laying hens, the internal and external quality characteristics of the eggs, including the stability of the yolk lipids and the indicators of egg foam formation and stability of the eggs submitted to different conditions and storage time and the physiological effects. A total of 448 Dekalb White laying hens, 25 weeks old, were used. They were distributed in a completely randomized design with seven treatments and eight replicates of eight birds each. The treatments consisted of seven rations formulated to be isoenergetic and isonutritives: T1 - ration without addition of antioxidant; T2 - feed with addition of 200ppm of the synthetic antioxidant (BHT); T3 - ration with 200ppm of ethanolic extract of mango seed; T4 - ration with 400ppm of ethanolic extract of mango seed; T5 - ration with 600ppm of ethanolic extract of mango seed; T6 - ration with 800ppm of ethanolic extract of mango seed; T7 - ration with 1000ppm of ethanolic extract of mango seed. The use of the ethanolic extract of the mango seed in the commercial laying ration did not significantly influence any of the evaluated variables for performance and egg quality; There was no significant difference between treatments for the amount of phenolic compounds and lipid peroxidation in the egg yolks. However, a significant difference was observed for *in vitro* antioxidant activity of the yolks evaluated by the DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil) and ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) methods, considering the optimum levels of 750ppm and 530ppm for the DPPH and ABTS methods, respectively, and pro-oxidant effect of levels higher than this. The characteristics and the quality of the fresh eggs of laying hens were not affected. However, better foam formation and stability results were observed for eggs stored under refrigeration from birds fed the rations containing 400, 800 and 1000ppm of the extract. The hemogram, biochemical parameters, phenolic compounds and blood antioxidant activity of laying hens were not influenced by treatments. Although, there was a quadratic effect for lipid peroxidation of the blood, indicating a reduction in the values with addition of the extract in the ration reaching the minimum value with the estimated level of 690ppm and increase in levels higher than this. For glutathione peroxidase activity in the laying hens, no significant difference was observed between treatments. Therefore, the residue of the mango seed obtained from the fruit processing can be used for the production of natural extracts with antioxidant activity, allowing its use in substitution of synthetic antioxidants, in the feeding of

commercial laying hens that will consequently produce healthier eggs for human consumption.

Key-words: Mangiferin. Natural antioxidante. Oxidative stress. Performance. Physiological effects. Storage.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Potencial antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico do caroço da manga	42
Tabela 2. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais com extrato etanólico do caroço da manga para poedeiras comerciais	44
Tabela 3. Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga no período de 25 à 66 semanas de idade	47
Tabela 4. Característica e qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço de manga no período de 25 à 66 semanas de idade	50
Tabela 5. Potencial antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico do caroço da manga	57
Tabela 6. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais com extrato etanólico do caroço da manga para poedeiras comerciais	59
Tabela 7. Compostos fenólicos, capacidade e atividade antioxidante e peroxidação na gema dos ovos de poedeiras alimentadas com extrato etanólico do caroço da manga	62
Tabela 8. Potencial antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico do caroço da manga	69
Tabela 9. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais com extrato etanólico do caroço da manga para poedeiras comerciais	70
Tabela 10. Característica e qualidade de ovos frescos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	74
Tabela 11. Característica e qualidade de ovos armazenados (durante 28 dias) de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	75
Tabela 12. Característica e qualidade dos ovos frescos e armazenados de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	77

Tabela 13. Valores de pH e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos frescos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	78
Tabela 14. Valores de pH e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos armazenados (28 dias) de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	79
Tabela 15. Valores de pH e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos frescos e armazenados de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	80
Tabela 16. Potencial antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico do caroço da manga	86
Tabela 17. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais com extrato etanólico do caroço da manga para poedeiras comerciais	87
Tabela 18. Hemograma de poedeiras alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	92
Tabela 19. Parâmetros bioquímicos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	93
Tabela 20. Compostos fenólicos, atividade antioxidante e peroxidação lipídica do sangue de poedeiras alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	95
Tabela 21. Atividade da glutathiona peroxidase em órgãos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga	97

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3	DESEMPENHO E QUALIDADE DOS OVOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA	39
4	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE OVOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA	53
5	QUALIDADE DOS OVOS FRESCOS E ARMAZENADOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA	65
6	EFEITOS FISIOLÓGICOS DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS	82
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES	98
	REFERÊNCIAS	99

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A avicultura mundial tem passado por mudanças importantes no sistema de produção de carne e ovos, pois a comercialização de seus produtos tem sofrido cada vez mais a influência da opinião pública, formada por grupos organizados e difundida por meios de comunicação como televisão, internet, entre outros. Assim, surge a necessidade de atender mercados consumidores específicos e as suas influências nos aspectos relativos à forma de produção, tais como: não uso de antibióticos promotores de crescimento e de outras drogas restritivas na produção, restrições ao uso de material derivado de organismos geneticamente modificados, etc.

O fato é que a busca por alimentos, teoricamente, mais seguros ou saudáveis têm crescido e estes consumidores estão dispostos a pagar mais por isso. Assim a indústria avícola deve se adaptar para atender essa demanda do mercado, sendo fundamental a realização de pesquisas que viabilizem a retirada de alguns aditivos das rações.

Sabe-se que o ovo é uma excelente fonte de ácidos graxos essenciais e que os ácidos graxos da gema do ovo estão sujeitos à oxidação lipídica. Apesar dos processos oxidativos em ovos não serem vistos como um problema, a produção de ovos enriquecidos com ácidos graxos poli-insaturados tem aumentado o interesse por esse problema.

Dentre as deteriorações que podem ocorrer nos alimentos, a oxidação lipídica é considerada uma das mais importantes, podendo afetar a sua qualidade, principalmente o aroma, o sabor e o valor nutricional, além de produzir compostos tóxicos. Nesse contexto, tendo em vista a proteção dos ovos contra os efeitos da oxidação lipídica, vários estudos têm sido realizados utilizando antioxidantes sintéticos e naturais na alimentação das aves.

Os antioxidantes sintéticos são comumente utilizados em rações para aves. Entretanto, atualmente a utilização destes aditivos é bastante contestada devido à existência de relatos que indicam uma certa toxicidade destes ao organismo. Dessa forma, tem-se aumentado o interesse por pesquisas com compostos antioxidantes naturais de diferentes partes das plantas e alguns estudos têm demonstrado maior atividade antioxidante para as fontes vegetais mais ricas em compostos fenólicos.

Nesse contexto, a manga (*Mangifera indica L.*) é uma fruta tropical abundante no Brasil e por se tratar de uma fruta sazonal, a grande maioria das frutas é processada. Essa atividade produz grande volume de resíduos que não são utilizados para nenhum fim comercial, sendo então descartados, tornando-se uma fonte de poluição. Por outro lado, a

manga vem sendo apontada como uma possível fonte de antioxidantes naturais, pois apresenta em sua composição, diferentes compostos com atividade antioxidante comprovada.

Diante do exposto, pode-se inferir que o uso desses resíduos para a produção de extratos com atividade antioxidante deve ser investigado, pois uma vez comprovadas as suas ações e seus benefícios para as aves, será agregado valor à cadeia produtiva. Também será possível a obtenção de um antioxidante natural para substituir os produtos sintéticos.

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais, sobre o desempenho e a qualidade interna e externa dos ovos frescos, sobre a capacidade antioxidante e estabilidade lipídica dos ovos de poedeiras comerciais, sobre a estabilidade dos lipídeos da gema dos ovos frescos e durante o armazenamento e sobre os efeitos fisiológicos ao longo do ciclo de produção.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

INTRODUÇÃO

No atual modelo dos sistemas de criação, as aves são criadas em confinamento e mantidas em grupos bem maiores quando comparados à situação na natureza, assim, vários fatores adversos, como manejo, estresse calórico, condição fisiológica, idade, alimentação, podem alterar o funcionamento normal do organismo desses animais, induzindo a formação de espécies reativas ao oxigênio (JESUS, 2007).

Segundo Bertechini (2012), as poedeiras modernas estão cada vez mais precoces, apresentando baixas capacidades de ingestão de ração em todas as fases. O grande desafio é dominar o dinamismo da genética que tornou as aves muito mais exigentes, principalmente sob o aspecto nutricional.

Nesse contexto, os lipídeos, incluindo óleos e gorduras, são ingredientes comumente utilizados nas rações de aves e suínos como excelente fonte de energia e ácidos graxos essenciais. A utilização destes ingredientes tem por objetivo, aumentar o nível energético, melhorar a palatabilidade das rações, a conversão alimentar e a absorção das vitaminas lipossolúveis, além de propiciar uma melhoria na consistência das rações fareladas ou peletizadas.

Contudo, apesar dos benefícios da utilização desses ingredientes na dieta, os lipídeos contêm ácidos graxos insaturados que são bastante susceptíveis à oxidação. (RODRIGUES *et al.*, 2005; MURAMATSU *et al.*, 2005). Pereira (2009), afirma que os lipídeos podem ser oxidados de diferentes formas, em função do meio e dos agentes catalisadores, sendo os ácidos graxos insaturados as estruturas mais susceptíveis ao processo oxidativo.

Durante o processo de oxidação, óleos, gorduras, vitaminas lipossolúveis e pigmentos carotenoides reagem espontaneamente com o oxigênio e sofrem deterioração, ocorrendo a formação de radicais livres, peróxidos e seus produtos secundários, os quais têm demonstrado exercer efeitos desfavoráveis sobre o desempenho, a sanidade animal e a qualidade dos produtos dos animais que recebem dietas com gordura oxidada (RACANICCI *et al.*, 2008), além de causar danos às estruturas celulares e tecidos afetando a resposta imune (DIBNER *et al.*, 1996).

Por sua vez, o ovo é uma excelente fonte de ácidos graxos essenciais que, como em qualquer alimento, está sujeito à oxidação lipídica, principalmente durante a estocagem

(HAYAT *et al.*, 2010). Embora o processo oxidativo em ovos não seja visto como um problema, a produção de ovos enriquecidos com ácidos graxos poli-insaturados pode aumentar a suscetibilidade à peroxidação (RADWAN *et al.*, 2008; HAYAT *et al.*, 2010).

Dessa forma, nos últimos anos tem-se despertado o interesse em buscar produtos capazes de prevenir ou retardar os processos oxidativos, evitando riscos toxicológicos e perdas econômicas ocasionadas por este processo quando não devidamente controlado. Estes produtos são conhecidos como antioxidantes e existem na forma natural e sintética.

Os antioxidantes sintéticos comumente usados nas rações são o butilato de hidroxianisol (BHA) e o butilato de hidroxitolueno (BHT). Porém, segundo Luna *et al.* (2010), esses antioxidantes podem estar relacionados a uma possível ação carcinogênica, o que tem levado os consumidores a rejeitar produtos que os contenham. Portanto, é importante se buscar antioxidantes naturais que possam ser utilizados como substitutos aos antioxidantes sintéticos.

Assim, diversas pesquisas vêm sendo realizadas com aves poedeiras comerciais, utilizando algumas fontes vegetais ricas em compostos com atividade antioxidante, nas quais têm sido relatadas associações à melhoria do desempenho produtivo das aves e da qualidade dos ovos, além de promover uma maior estabilidade lipídica das gemas dos ovos (RADWAN *et al.*, 2008; HAYAT *et al.*, 2010; LUNA *et al.*, 2010; ZHAO *et al.*, 2011; ÖZEKU *et al.*, 2011; BOTSOGLOU *et al.*, 2012).

Nesse contexto, estudos têm demonstrado que a manga (*Mangifera indica L.*) também pode apresentar uma certa atividade antioxidante. Segundo Huber *et al.* (2012), a casca e o caroço da manga são boas fontes de antioxidantes naturais, pois contêm diferentes componentes com essa ação.

Diante do exposto, objetivou-se, com esta revisão, descrever os principais fatores nutricionais que podem influenciar o estado antioxidante da poedeira e a capacidade antioxidante dos ovos, enfatizando a utilização de constituintes da manga como antioxidante natural em substituição aos antioxidantes sintéticos.

REVISÃO DE LITERATURA

Oxidação

O oxigênio é considerado um composto indispensável para a produção eficiente de energia em plantas e animais. Entretanto, quando encontrado em concentrações superiores a da atmosfera, este pode resultar em graves danos aos seres vivos. Os principais efeitos do oxigênio variam de acordo com o tipo de organismo, seu estado fisiológico, suas defesas antioxidantes e sua dieta, assim como de acordo com os diferentes tecidos do organismo (BELLÓ, 2002).

As espécies reativas de oxigênio, como os ânions superóxidos, radicais hidroxil e peróxido de hidrogênio estão envolvidas em uma série de processos degenerativos, por serem ou gerarem radicais livres (ARUOMA *et al.*, 1998). A formação de espécies reativas de oxigênio ocorre durante os processos oxidativos biológicos, sendo formados a partir de compostos endógenos, como também a partir do metabolismo de compostos exógenos ao organismo. Dentre os processos que formam as espécies reativas de oxigênio, podemos citar a fosforilação oxidativa, cicloxigenase, lipoxigenase, aldeído oxidase, reações catalisadas por metais de transição como o ferro e o cobre, entre outras (SLATER, 1984; HALLIWELL, 1987).

Os radicais livres são definidos como qualquer composto químico que contenha um ou mais elétrons desemparelhados, apresentando grande instabilidade elétrica. Dessa forma, são altamente reativos e capazes de captar elétrons de compostos próximos, resultando em reações de oxidação, que causam reações em cadeia de lesão celular. A formação de radicais livres pelo organismo em condições normais é inevitável, pois estes são necessários no processo de respiração celular que ocorre nas mitocôndrias, a fim de gerar o ATP (MACHLIN; BENDICH, 1987). Segundo Amorim e Tirapegui (2008), os radicais livres são produzidos naturalmente pelo organismo, porém por ocasião de alguma disfunção biológica, podem ser produzidos em maior quantidade.

Segundo Barreiros *et al.* (2006), entre os danos mais graves causados pelo excesso de radicais livres ao organismo estão os danos ao DNA, às enzimas, às membranas celulares e ao sangue. Conforme estes pesquisadores, proteínas, fosfolípídeos, glicoproteínas e glicolípídeos das membranas são alguns dos potenciais alvos dos radicais livres. Uma vez que a membrana celular está lesionada, as estruturas celulares dos órgãos ficam expostas, tornando-se vulneráveis, inclusive o DNA, podendo gerar mutações genéticas que

desfavoreçam a regulação do ciclo celular. É difícil medir de forma direta a oxidação nas células, porém é possível determinar indiretamente os efeitos oxidativos que levam a uma alteração no DNA, a partir da oxidação dos lipídeos, dos grupamentos sulfridil das proteínas, das bases púricas e pirimídicas.

A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis dos alimentos, tornando-os impróprios para consumo, além de provocar alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, mas também a integridade e segurança dos alimentos, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais e formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO; JORGE, 2006).

A peroxidação lipídica é definida como a deterioração oxidativa dos lipídeos poli-insaturados dos fosfolipídeos das membranas das células, causada pelas espécies reativas de oxigênio, que desintegram estes compostos, permitindo a entrada de radicais livres nas estruturas intracelulares (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

De acordo com Silva *et al.* (1999), os fenômenos de oxidação dos lipídeos dependem de mecanismos reacionais diversos e extremamente complexos, que se relacionam com o tipo de estrutura lipídica e o meio onde se encontra. Vários fatores estão envolvidos na determinação da estabilidade oxidativa dos lipídeos, dentre eles, podemos citar: o número e a natureza das insaturações presentes na cadeia, o tipo de interface entre os lipídeos e o oxigênio (fase lipídica contínua, dispersa ou em emulsão), a exposição à luz e ao calor, e a presença de pró-oxidantes ou de antioxidantes.

Processos oxidativos dos lipídeos

A degradação oxidativa dos lipídeos pode ocorrer por várias vias, em função do meio e dos agentes catalisadores.

Reações hidrolíticas:

As reações hidrolíticas são catalisadas pelas enzimas lipase ou pela ação de calor e umidade, com formação de ácidos graxos livres.

Oxidação enzimática:

A oxidação lipídica pode ocorrer por catálise enzimática, especificamente por ação da lipoxigenase. Esta enzima atua sobre os ácidos graxos poli-insaturados (e.g. ácidos linoleico e linolênico, e seus ésteres), catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas que podem envolver-se em diferentes reações de degradação, originando diversos produtos.

Foto-oxidação:

O mecanismo de foto-oxidação de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação ultravioleta em presença de fotosensibilizadores (e.g. clorofila, mioglobina). O processo envolve reações, cujo resultado é a formação de hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência da luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Auto-oxidação:

A auto-oxidação é o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras. Segundo Ramalho e Jorge (2006), este processo é composto por uma série de reações inter-relacionadas, que estão associadas à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados, e ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação.

Na iniciação ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor. Já na etapa de propagação os radicais livres que são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico, são convertidos em outros radicais, aparecendo os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Por fim, na etapa de terminação, dois radicais combinam-se, com a formação de produtos estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis).

Para evitar a auto-oxidação de óleos e gorduras há a necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de energia (temperatura e luz) que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres, reduzindo a presença de traços de metais no óleo, evitando ao máximo o

contato com oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídeos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Estresse oxidativo em aves e sistemas de defesa antioxidante dos animais

O termo estresse oxidativo refere-se ao desequilíbrio entre a geração de espécies reativas ao oxigênio e às atividades de defesa antioxidantes (ARUOMA *et al.*, 1998). Quando os níveis das espécies reativas ao oxigênio ultrapassam a capacidade antioxidante dos tecidos e dos fluidos corporais é possível que estes danifiquem macromoléculas biológicas, levando a danos celulares e disfunções que prejudicam a produtividade (MATES *et al.*, 1999).

Segundo Mates *et al.* (1999), uma das principais consequências do estresse oxidativo é a peroxidação lipídica que, além de causar possíveis danos as proteínas e ao DNA, altera consequentemente a função celular.

Vários fatores podem desencadear um quadro de estresse oxidativo no organismo animal, dentre eles podemos citar os fatores ambientais, nutricionais e fisiológicos que alteram a homeostase. Em situações de estresse, os vertebrados desencadeiam uma série de alterações endócrinas que aumentam imediatamente a disponibilidade de energia ao organismo, na forma de ATP (CREEL, 2001). Todavia, durante essas reações, também, há a formação de radicais livres que podem agravar os processos oxidativos. Dessa maneira, quanto maior é o quadro de estresse em que um determinado animal está inserido, maior vai ser o dano oxidativo causado ao organismo deste animal.

Segundo Jesus (2007), as aves criadas em confinamento são mantidas em grupos bem maiores quando comparados à sua situação na natureza. Assim, vários fatores adversos, sejam eles intrínsecos (sistema imunológico) ou extrínsecos (estresse calórico, manipulação, barulho, alimentação), além das práticas corriqueiras de manejo na criação industrial de aves (a imobilização na pesagem das aves e na transferência de gaiolas, manuseio das aves na saída do lote, entre outros) podem alterar o funcionamento normal do organismo desses animais, induzindo a formação de espécies reativas ao oxigênio.

Para Jesus (2007) a maioria das pesquisas relacionadas ao estresse oxidativo refere-se à exposição dos animais a altas temperaturas (estresse calórico). Porém, segundo esse mesmo pesquisador, o estresse oxidativo é causado por diversos fatores além da temperatura e que, também, devem ser estudados, assim como sua relação com o desempenho

dos animais, a utilização dos nutrientes da ração, o efeito sobre o sistema imune e as características de qualidade dos alimentos produzidos por estes (carne e ovos).

Aves mantidas em condição de estresse por longo prazo apresentam níveis elevados de corticosterona no organismo, que podem modificar as funções imunológicas, tornando as aves mais susceptíveis às enfermidades como ascite e doenças cardiovasculares (arteriosclerose) (GRANDIN, 1998).

Por outro lado, o organismo animal apresenta vários mecanismos de defesa para evitar os danos causados pelos radicais livres, chamados de sistema de defesa antioxidante, ou simplesmente, antioxidantes. Estes agem “recolhendo” as espécies reativas ao oxigênio ou bloqueando a peroxidação, e eventualmente inibindo a peroxidação lipídica (HALIFEGLU *et al.*, 2003). Enzimas endógenas antioxidantes como a superóxido dismutase, catalase e glutatona peroxidase, exercem um papel importante no “recolhimento” dos radicais oxidativos (SPURLOCK; SAVAGE, 1993), e são consideradas marcadores na avaliação do estresse oxidativo.

A superóxido dismutase (SOD) corresponde a uma família de enzimas com diferentes grupos prostéticos em sua composição. Normalmente, a atividade dessa enzima depende de alguns cofatores enzimáticos, como o cobre, o zinco e o manganês. Assim, a SOD pode ser encontrada sob duas formas que diferem entre si pelo sítio ativo e pela localização celular, no qual a forma SOD-cobre-zinco está presente principalmente no citosol e a forma SOD-manganês está localizada primariamente na mitocôndria (BARBOSA *et al.*, 2011).

A enzima SOD tem a capacidade de catalisar no organismo animal a dismutação de dois radicais superóxidos, na presença do próton H^+ , em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio (ROSS; MOLDEUS, 1991), que é menos reativo e pode ser degradado pela ação de outras enzimas, como a catalase e glutatona peroxidase (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000).

A catalase (CAT) é uma hemoproteína citoplasmática que catalisa a redução de peróxido de hidrogênio à água e à oxigênio molecular. Todavia, para se ter a ativação enzimática é necessária a presença de NADPH (NORDBERG; ARNÉR, 2001). A atividade dessa enzima encontra-se em organelas subcelulares unidas por uma membrana conhecida por peroxissoma. A mitocôndria e o retículo endoplasmático contêm pouca ou nenhuma catalase. Dessa forma, por não possuírem peroxissomas, alguns órgãos estão mais expostos aos danos provocados pela produção de espécies reativas de oxigênio, como coração, pulmão e cérebro (BRAZ, 2015).

Miranda *et al.* (1996) afirmam que quando o peróxido encontra-se em altas concentrações a catalase age principalmente catalisando a transformação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Em baixas concentrações de peróxido, a catalase funciona como uma peroxidase, oxidando um composto doador de hidrogênio, como metanol, etanol ou ácido fórmico.

A glutathiona peroxidase (GPx) integra o grupo deselenoproteínas, que têm, em seu sítio ativo o selênio (Se), sendo dependentes desse mineral (VASCONCELOS *et al.*, 2007). Segundo Braz (2015), essa enzima é um tripeptídeo formado por cisteína, glutamato e glicina, que apresenta alta atividade no fígado, moderada atividade no coração, pulmão e cérebro, e baixa atividade nos músculos.

A enzima GPx catalisa a redução do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos utilizando a glutathiona reduzida (GSH) como um co-substrato doador de elétrons, levando à formação de glutathiona oxidada (GSSG) e água. No entanto, a GSSG é imediatamente reduzida pela ação da enzima glutathiona redutase (GR) utilizando equivalentes redutores de NADPH. Essa redução da GSSG ajuda a evitar a oxidação de proteínas (proteína tiol formação). Assim, é de extrema importância a ação da glutathiona redutase, possibilitando a manutenção da integralidade do ciclo redox da glutathiona e, conseqüentemente, do equilíbrio adequado entre os sistemas de defesa enzimáticos (BARBOSA *et al.*, 2011).

Lipídeos na alimentação de poedeiras

Os lipídeos são substâncias não solúveis em água, representados pelos triacilgliceróis, fosfolipídeos, colesterol, entre outros. Os ácidos graxos, por sua vez, são os principais componentes da estrutura lipídica (TIRAPEGUI, 2000), sendo que os produtos da hidrólise dos triglicerídeos, encontram-se presentes nas gorduras animal e vegetal em número par de carbonos, devido à biossíntese, a partir de 2 unidades de carbono (BERTECHINI, 2006).

Segundo Butolo (2002), os ácidos graxos são classificados de acordo com o comprimento de sua cadeia em: ácidos graxos de cadeia curta (menos de 8 carbonos), ácidos graxos de cadeia média (de 8 a 11 carbonos), de cadeia intermediária (12 a 15 carbonos) e de cadeia longa (igual ou maior que 16 carbonos). Com base na presença ou não de duplas ligações, os ácidos graxos são definidos como saturados (aqueles que não possuem duplas ligações), monoinsaturados (aqueles que contêm uma dupla ligação) e os poli-insaturados (quando estão presentes duas ou mais duplas ligações).

Os ácidos graxos insaturados são caracterizados por possuírem 16 ou mais átomos de carbono, em sua estrutura química, e duas ou mais duplas ligações e se diferenciam em várias séries ou famílias, como Ômega 9 (ω -9), Ômega 6 (ω -6), Ômega 3 (ω -3), entre outras. As duas famílias mais importantes são Ômega 6 (C18:2), derivado do ácido linoleico (LA), e o Ômega 3 (C18:3), derivado do ácido α -linolênico (LNA). Os nomes das duas séries derivam da posição da primeira dupla ligação, a partir do grupo metila, no sexto ou no terceiro átomo de carbono, respectivamente (BRIZ, 1997).

Os ácidos graxos insaturados têm estrutura lipídica mais susceptíveis ao processo oxidativo, de acordo com Cosgrove *et al.* (1987). Isso se deve à existência de uma relação direta entre o grau de insaturações e a susceptibilidade à oxidação. Segundo Hamilton *et al.* (1983), os óleos vegetais que são comumente utilizados em rações para aves como uma excelente fonte de energia e ácidos graxos essenciais, apresentam maior susceptibilidade à deterioração, uma vez que apresentam maior velocidade de auto-oxidação, podendo influenciar diretamente a saúde dos animais.

Ácidos graxos essenciais e mecanismos de ação

Os ácidos graxos essenciais são aqueles que não podem ser sintetizados pelo organismo dos animais, porém são essenciais à sua saúde, devendo ser fornecidos via dieta, sendo representados pelos ácidos graxos das famílias Ômega 6 (ácido linoleico) e Ômega 3 (ácido linolênico) (BUTOLO, 2002).

Os ácidos graxos linoleico e linolênico são considerados progenitores de uma família inteira de outros ácidos graxos essenciais ômega 6 e ômega 3, respectivamente, e são essenciais para a função tecidual normal. Esses compostos são ácidos graxos de cadeia mais longa que contêm mais carbonos e mais duplas ligações que seus “progenitores”, sendo conhecidos como ácidos graxos poli-insaturados ômega 6 e ômega 3 de cadeia longa (PUFA – *Polyunsaturated Fatty Acid*). A dupla ligação na estrutura desses ácidos graxos os torna biologicamente ativos, o que quer dizer que são utilizados no organismo em funções muito importantes e não somente como fonte energética para as células (BUTOLO, 2002).

O ácido linoleico (ω 6) atua sobre a fluidez, sobre os receptores das membranas celulares dos animais e sobre suas funções enzimáticas. Uma vez que o ácido linoleico se converte em um PUFA de cadeia mais longa, o chamado ácido araquidônico, o animal pode convertê-lo em outros ácidos graxos importantes de cadeia longa que atuam como mediadores biológicos (BUTOLO, 2002).

Segundo Bertechini (2006), os ácidos graxos linoleico e araquidônico são considerados essenciais ao organismo animal, porém, no fígado, ocorre síntese do ácido araquidônico, a partir do linoleico, na presença da vitamina B6. Dessa forma, considera-se que somente o ácido linoleico (C18:2) é dieteticamente essencial. As plantas sintetizam tanto o ácido linoleico como o linolênico diferentemente das células animais.

O ácido linolênico (18:3, n-3) pertence à família ômega 3 ou n-3 dos ácidos graxos poli-insaturados e pode originar vários outros componentes de ácidos graxos ômega 3, entre eles, destaca-se o ácido eicosapentaenoico (20:5), mais comumente denominado de EPA (BUTOLO, 2002).

Ovos enriquecidos com fontes de lipídeos

Por muito tempo, o consumo de ovos apresentou-se limitado devido ao mito que o relacionava com o aumento dos níveis plasmáticos do colesterol. Entretanto, pesquisas estão desmistificando essa ideia e revelando que a ingestão da gordura saturada combinada à predisposição genética, e não propriamente o colesterol ingerido, são os responsáveis pela elevação das taxas do colesterol sanguíneo, fator que predispõe ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (FAITARONE, 2010).

Em decorrência do avanço dos meios de comunicação e o maior esclarecimento sobre a prevenção e cura de doenças, a população tem mudado, gradativamente, seu comportamento, buscando hábitos mais saudáveis, uma vez que toma conhecimento dos riscos gerados por uma alimentação inadequada, passando, também, a buscar alimentos mais saudáveis, ou ainda, que previnam determinadas doenças, tais como hipercolesterolemia e diabetes (PITA, 2007).

Partindo-se desta premissa, cada vez mais estão presentes, no mercado, alimentos que incluem em sua composição determinadas substâncias, às quais se atribui a capacidade de produzir benefícios para a saúde, incluindo a prevenção e o tratamento de determinadas enfermidades. Estes alimentos são denominados alimentos nutracêuticos (PITA, 2007).

Entre os produtos nutracêuticos presentes no mercado, estão os ovos com altos teores de ácidos graxos poli-insaturados da família Ômega-3 (PUFA Ômega 3) (BRIZ, 1997). Os PUFAs, entre outros benefícios, são responsáveis pela redução dos níveis de triacilglicerol e do colesterol LDL no sangue, ao mesmo tempo em que auxiliam na redução da pressão sanguínea, fatores que predispõem a doenças cardiovasculares.

O papel fisiológico dos PUFAs é muito importante e variado: a série ω -6 é mais encontrada nos triglicérides de reserva. O ácido linoleico (LA) e o ácido araquidônico (AA) possuem papel importante na integridade da hipófise e no transporte das vitaminas lipossolúveis. O ácido araquidônico é abundante no tecido nervoso. Os ácidos graxos da série ω -3 predominam nos fosfolípídeos das membranas celulares e deles dependem sua permeabilidade e flexibilidade (LINKO; HAYAKAWA, 1996). É importante ressaltar que as duas séries modulam o metabolismo e o transporte do colesterol, formando parte das lipoproteínas a ele associadas.

Visando esse aspecto, a possibilidade de se reduzir os ácidos graxos saturados da gema dos ovos e elevar os insaturados, por meio da manipulação dietética das aves, tem sido uma opção para melhorar a qualidade nutricional dos ovos, tornando-os mais saudáveis e melhorando a aceitabilidade por parte dos consumidores (FRANCO; SAKAMOTO, 2005).

A maior concentração de lipídeos nos ovos encontra-se na gema e, dentre seus componentes, podem-se citar as lipoproteínas, fosfolípídeos, triacilgliceróis e colesterol. A composição em colesterol e ácidos graxos da fração lipídica da gema apresenta: 8,7g de ácidos graxos saturados, 13,2g de ácidos graxos monoinsaturados, 3,4g de ácidos graxos poliinsaturados e 1.120mg de colesterol, por 100g de gema fresca (HOLLAND *et al.*, 1997).

Alguns pesquisadores (BAUCELLS *et al.*, 2000; GROBAS *et al.*, 2001; GÓMEZ, 2003; MAZALLI *et al.*, 2004) têm demonstrado a possibilidade de modificar o perfil de ácidos graxos da fração lipídica dos ovos. Entretanto, vale ressaltar que a modificação do perfil de ácidos graxos deve ser acompanhada, também, da manutenção de adequada relação entre os ácidos graxos das famílias ω -6 e ω -3.

Uma alternativa para suplementar PUFA ômega-3 na alimentação é através do consumo direto de produtos que contenham ácido eicosapentaenoico e/ou ácido docosahexaenoico, já na forma de concentrados (cápsulas), emulsões de óleos marinhos devidamente desodorizados, ou de preparados que contenham estes ácidos graxos (margarinas, leites, derivados lácteos, entre outros). Contudo, todos constituem-se em alternativas de maior custo.

Além disso, muitos destes produtos apresentam problemas sensoriais e de estabilidade, já que os PUFAs são muito susceptíveis a desenvolver processos de rancidez oxidativa, o que obriga a incorporação de antioxidantes em sua formulação.

Existem no mercado muitos produtos que possuem suplementação com PUFA ômega-3. Para os países de menor desenvolvimento, esta via é ainda de muito baixo impacto, devido à escassa disponibilidade e ao alto custo. Uma alternativa interessante é utilizar-se da

cadeia alimentar natural, através da manipulação nutricional dos animais, como veículos para prover enriquecimento com PUFA ômega-3 (BORN, 1998).

Vários estudos têm sido realizados visando à incorporação de ácidos graxos poli-insaturados da família ômega 3 na gema dos ovos, facilmente alcançada por meio da alimentação das poedeiras, com dietas contendo sementes oleaginosas como linhaça e canola ou seus óleos (MORI, 2001) e óleos de peixe (BAUCELLS *et al.*, 2000). Portanto, os ovos enriquecidos podem fornecer uma fonte alimentícia alternativa para aumentar o consumo destes ácidos graxos essenciais.

A inclusão de 7% de óleo de linhaça a uma dieta comercial controle para poedeiras promove aumento nos ácidos graxos ω -3 de 1,2 a 7,8% na gema de ovo, o que implica em aumento de 30 vezes no teor do ácido linolênico (LEWIS *et al.*, 2000).

Óleos de peixes, como sardinha, menhaden, anchova e atum, também contêm altos teores de ω -3, porém a adição destes nas rações é pouco viável, pois, além de onerosos, são mais susceptíveis à oxidação e acabam resultando em ovos com sabor desagradável, havendo a necessidade de se utilizar nas rações maiores teores de antioxidantes. (CHERIAN *et al.*, 1996).

Oxidação lipídica em ovos

Os lipídeos conferem valor nutritivo aos alimentos, constituindo uma fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais (ácidos linoleico, linolênico e araquidônico) e de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (SILVA *et al.*, 1999). O conteúdo lipídico dos ovos pode ser influenciado pela linhagem, tamanho do ovo e pelos componentes e tipo de gordura adicionada à ração (BARRETO *et al.*, 2006). Além disso, Magalhães (2007) afirma que diversos fatores, tais como a idade da poedeira, nutrição, instalações, cuidados sanitários e condições de armazenamento dos ovos estão relacionados com os parâmetros qualitativos desse produto.

A gema é composta de 30 a 34% de gorduras, contendo colesterol (5% do total gorduroso) e, sobretudo, triglicerídeos (66%), fosfolipídeos (28%) e ácidos graxos livres (1%), sendo a porção lipídica, a que apresenta as maiores concentrações de ácidos graxos insaturados (SARCINELLI *et al.*, 2007).

Embora os lipídeos de ovos crus não sejam facilmente oxidados, em pesquisas com ovos comerciais observou-se que durante períodos longos de armazenamento, tanto em

condições refrigeradas quanto em temperatura ambiente, os ovos *in natura* sofrem oxidação, apresentando uma maior incidência em altas temperaturas (PEREIRA, 2009).

Os ovos possuem grandes quantidades de ácidos graxos insaturados, que são menos estáveis ao processo de oxidação lipídica, limitando a sua capacidade de conservação (PITA *et al.*, 2004). No entanto, ao estudar hidrolisados proteicos da gema de ovo, inferiu-se que eles podem ser utilizados como antioxidantes naturais para prevenir a oxidação de óleos poli-insaturados e podem ser usados em ingredientes alimentares relacionados (SAKANAKA *et al.*, 2004). Isso porque a gema de ovo é reconhecida por conter grandes quantidades de lecitina, α -tocoferol e xantofilas, além de proteínas como a fosvitina e ovotransferrina (conalbumina), compostos de grande atividade antioxidante (CUPPETT, 2001; LEE *et al.*, 2002).

A luteína é um exemplo de pigmento carotenoide amarelo, da classe das xantofilas, presente em vegetais e na gema do ovo, que vem sendo estudada como um dos mais importantes antioxidantes responsáveis pela saúde dos olhos humanos (COTRIM, 2011). Entretanto, mesmo reconhecendo a existência de componentes internos que protegem os lipídeos, durante o período de armazenamento, tem sido avaliado o efeito da utilização de plantas sobre a oxidação lipídica das gemas, uma vez que se observou que ovos de poedeiras suplementadas com antioxidantes naturais foram protegidos contra os processos oxidativos (RADWAN *et al.*, 2008).

De acordo com Carvalho (2012), a alteração da composição de ácidos graxos dos ovos através do enriquecimento nutricional das aves, pode aumentar a quantidade de ácidos graxos poli-insaturados presentes na gema, sendo estes mais susceptíveis a oxidação. Segundo Botsoglou *et al.* (2012), ao quantificar produtos primários e secundários da oxidação lipídica em ovos enriquecidos com ácidos graxos de cadeia longa, percebeu-se que a adição de vitamina E ou folhas de oliveira na alimentação de poedeiras exerce efeito protetivo nos lipídeos, demonstrando a importância de sua suplementação com antioxidantes.

O conhecimento da produção, do processamento, da comercialização e dos métodos de mensuração da qualidade do ovo é importante para o consumidor (MORENG; AVENS, 1990) e também para os fabricantes de produtos oriundos dos ovos, pois quanto melhor a qualidade interna dos ovos, melhor será a separação dos seus componentes sem contaminação, especialmente, o albúmen (GARCIA *et al.*, 2010).

Influência dos lipídeos na qualidade dos ovos

Óleos e gorduras são ingredientes muito utilizados como fonte concentrada de energia e permitem a formulação de dietas de alta densidade energética. O NRC (1994), destaca a melhora na palatabilidade e na conversão alimentar e a redução na perda de nutrientes, entre outros, como efeitos benéficos, denominados “extracalóricos”, do uso de gorduras nas rações. Segundo Franco (1992), o efeito extracalórico da gordura consiste em uma maior energia líquida desta, uma vez que sua deposição pela ave é muito mais eficiente quando fornecida pela dieta que pela síntese a partir de precursores da acetilcoenzima A. Dessa forma, quando a gordura é incluída na dieta, a síntese de ácidos graxos é reduzida e a ave dispõe de mais energia para o desempenho produtivo.

De acordo com Franco e Sakamoto (2005), a nutrição das poedeiras, além de influenciar a qualidade física dos ovos (tamanho, porcentagem de seus componentes, resistência da casca), pode ainda influenciar sua qualidade nutricional (composição química). Santos (2005), observou que a inclusão de óleos vegetais em dietas de poedeiras, independentemente do tipo (soja, linhaça ou algodão), não melhorou as características de qualidade dos ovos em relação à dieta sem óleo. O nível de 4% de óleo vegetal melhorou a coloração da gema crua dos ovos e a elevação dos níveis de óleo de linhaça de 2 para 4% nas dietas ocasionou redução na porcentagem de gema e aumento na porcentagem de albúmen. Segundo esse mesmo autor, pesquisadores têm reportado um efeito negativo da suplementação com fontes de ácidos graxos poli-insaturados, para poedeiras comerciais, como a redução no peso dos ovos e o desempenho zootécnico.

Corroborando em parte os resultados descritos acima, Costa *et al.* (2008), afirmaram que a coloração da gema de ovos de poedeiras foi intensificada quando utilizados níveis acima de 1% de óleo de linhaça na dieta. Entretanto, a produção, o peso e a massa do ovo, além das conversões por massa e por dúzia de ovos e a qualidade interna e externa, não foram influenciados pelos níveis de óleo de linhaça na ração. Do mesmo modo, não houve efeito da inclusão de óleo de linhaça sobre a composição química dos ovos quando utilizados níveis acima de 1% na dieta.

De acordo com Whitehead *et al.* (1991), os ácidos graxos da dieta estimulam a secreção de proteínas no oviduto, aumentando o tamanho do ovo. Para Whitehead *et al.* (1993), características como peso do ovo e peso da gema sofrem influência, principalmente, da dieta rica em ácido linoléico recebida pela poedeira.

Entretanto, Ribeiro *et al.* (2007), não encontraram efeitos significativos dos níveis de ácido linoleico sobre a porcentagem da gema, albúmen ou casca, porém obtiveram efeito significativo sobre o peso do ovo. É importante ressaltar que além da dieta, a linhagem e a

idade da poedeira também podem afetar a composição lipídica da gema (SCHEIDELER *et al.*, 1998).

Outro fator que pode ser afetado pela nutrição é a deposição de colesterol na gema do ovo (HARGIS, 1991). A inclusão de ingredientes selecionados, como óleos vegetais ricos em ácidos graxos, em rações para poedeiras visa modificar o padrão lipídico da gema e reduzir o nível de colesterol do ovo. Todavia, os resultados encontrados na literatura sobre os efeitos da dieta nas concentrações de colesterol no ovo e no plasma são contraditórios (MURATA *et al.*, 2003). Mori *et al.* (1999), observaram que a adição de óleos ricos em ácidos graxos poli-insaturados na dieta diminui a concentração de colesterol do plasma e do ovo.

Antioxidantes

Os antioxidantes podem ser definidos como compostos ou substâncias químicas que inibem a oxidação, ou como qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada a do substrato oxidável, diminui ou inibe significativamente a oxidação do mesmo (BARREIROS *et al.*, 2006).

Segundo Halliwell *et al.* (1995), os antioxidantes podem ser classificados como enzimáticos e não enzimáticos, conforme a estrutura do agente oxidante. Os antioxidantes enzimáticos são aqueles produzidos pelo organismo, enquanto os antioxidantes não enzimáticos em sua grande maioria são exógenos, ou seja, necessitam ser absorvidos através da alimentação.

Os antioxidantes ainda podem ser classificados de acordo com o mecanismo de proteção. Dessa forma, a primeira categoria é a de antioxidantes de prevenção, composta pelas enzimas catalase, superóxido dismutase e a glutathione peroxidase que é considerada a principal enzima de prevenção, cujas funções são de reduzir os hidróperóxidos lipídicos em seus álcoois. A segunda categoria é a de antioxidantes denominados “*chain-breaking*”, composta pelo alfa-tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C) e o beta-caroteno, tendo como função “limpar” os radicais livres, e juntamente com os antioxidantes preventivos, prevenir ou retardar o processo de peroxidação lipídica (HALLIWELL *et al.*, 1995).

Para Fennema (1996), existe uma grande quantidade de compostos, naturais e sintéticos com propriedades antioxidantes, que são utilizados em vários alimentos, principalmente aqueles alimentos que contêm óleos e gorduras (especialmente os que contêm

ácidos graxos poli-insaturados que são facilmente oxidados) e na alimentação dos animais. No entanto, para a utilização desses antioxidantes, eles devem cumprir certos requerimentos, sendo a segurança para a saúde um dos mais importantes.

Mecanismos de ação dos antioxidantes

De acordo com Damodaran *et al.* (2010), as substâncias antioxidantes podem apresentar diferentes propriedades protetivas e podem agir em diversas etapas do processo oxidativo, funcionando por diferentes mecanismos, nos quais se incluem o controle de radicais livres, pró-oxidantes (metais de transição, oxigênio singlete e enzimas) e intermediários da oxidação (ânion superóxido e hidroperóxidos).

Dessa forma, as reações oxidativas podem ser interrompidas quando o átomo de hidrogênio do antioxidante (AH) reage com radicais livres (ROO• e R•), formando produtos não radicais e radical inerte (A•). Assim, as substâncias antioxidantes podem inibir a formação de radicais livres na cadeia de iniciação ou removê-los, interrompendo o processo na etapa de propagação das reações oxidativas desencadeadas pelos radicais (PODSEDEK, 2007). De acordo com Papas (1993), os tocoferóis naturais, o α -tocoferol sintético e outros antioxidantes sintéticos são antioxidantes efetivos na iniciação da oxidação.

Segundo Bianchi e Antunes (1999), os antioxidantes exógenos atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos, podendo impedir a formação de radicais livres, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre, além de serem capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-insaturados e as bases do DNA, evitando assim a formação de lesões e a perda da integridade celular.

Antioxidantes sintéticos

Os aditivos utilizados pela indústria de alimentos podem ser isolados a partir de materiais naturais ou produzidos por síntese, sendo idênticos aos encontrados na natureza, enquanto outros, são fabricados por cientistas de alimentos e não são baseados em substâncias que ocorrem naturalmente (CONEGLIAN *et al.*, 2011).

Os principais antioxidantes sintéticos utilizados habitualmente nos alimentos são os fenóis com várias substituições no anel. Os antioxidantes fenólicos são excelentes doadores

de elétrons ou de hidrogênio. Além disso, seus radicais intermediários são relativamente estáveis devido à deslocação por ressonância e à falta de posições moleculares apropriadas para serem atacadas pelo oxigênio molecular (FENNEMA, 1996). Dentre os antioxidantes sintéticos, que vem sendo utilizados amplamente por essas indústrias devido ao seu nível de eficácia, estão os compostos fenólicos, como o BHA (butilhidroxianisol), o BHT (butilhidroxitolueno), PG (galato de propila) e o TBHQ (terc-butilhidroquinona), (TAKEMOTO *et al.*, 2009), considerados antioxidantes primários, que atuam na etapa de iniciação (CONEGLIAN *et al.*, 2011).

Segundo Antunes e Canhos (1984), a vasta aplicação dos antioxidantes sintéticos em produtos alimentícios, deve-se ao fato de que eles apresentam características tecnológicas muito apropriadas e adequadas para retardar ou inibir a oxidação dos produtos sem acarretar problemas ou "defeitos" tecnológicos. No entanto, para Namiki (1990), a utilização de antioxidantes sintéticos pode estar relacionada a uma atividade carcinogênica.

Dessa forma, a partir do início dos anos 80 o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou para uso farmacêutico aumentou consideravelmente, com o intuito de substituir antioxidantes sintéticos os quais têm sido restringidos devido ao seu potencial de carcinogênese bem como pela comprovação de diversos outros males como aumento do peso do fígado e significativo aumento do retículo endoplasmático (ZHENG; WANG, 2001).

Antioxidantes naturais

Os extratos de materiais vegetais, incluindo óleos essenciais e essências, são ricos em compostos fenólicos, que despertam o interesse da indústria de alimentos devido à sua ação antioxidante, influenciando positivamente na qualidade e valor nutricional dos alimentos. Outro fator que também desperta o interesse de cientistas e consumidores em relação aos extratos vegetais, é sua ação medicinal na manutenção da saúde e proteção contra doenças coronárias e câncer, direcionando sua utilização para a produção de alimentos funcionais, por seus efeitos específicos na saúde e devido à percepção negativa em relação aos conservantes artificiais (LOLIGER, 1991; SMITH-PALMER *et al.*, 1998). Para Rizzo *et al.* (2010), os efeitos positivos de extratos vegetais e óleos essenciais têm sido estudados também na alimentação animal como antioxidantes e substitutos aos antimicrobianos melhoradores de desempenho.

A obtenção de extratos semipuros, frações e compostos puros de materiais vegetais responsáveis pelos efeitos biológicos, exige ampla colaboração entre farmacólogos e químicos, sendo indispensável avaliar a potência das frações e das substâncias puras em relação à sua concentração (CECHINEL; YUNES, 1998). A escolha da metodologia mais eficiente, sob o ponto de vista químico, pode não ser tão fácil, já que estes compostos podem sofrer a influência de diversos fatores como a natureza do vegetal, solvente, tamanho das partículas, tempo e temperatura de extração (ANDREO; JORGE, 2006).

Os principais antioxidantes obtidos, sobretudo de produtos de origem vegetal, são: compostos fenólicos, carotenoides, α -tocoferol (vitamina E) e ácido ascórbico (vitamina C) (LAGUERRE *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2010).

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias que possuem um ou mais grupamento hidroxila ligado diretamente a um anel aromático (VERMERRIS; NICHOLSON, 2006).

Os compostos fenólicos têm sido muito estudados devido à sua influência na qualidade dos alimentos, englobando uma gama enorme de substâncias, entre elas os ácidos fenólicos e os flavonoides, os quais, por sua constituição química, possuem propriedades antioxidantes (SOARES, 2002; MELO *et al.*, 2008).

A capacidade dos compostos fenólicos em atuar como sequestradores de radicais livres está relacionada à sua estrutura química, na qual o tipo de composto, o grau de metoxilação e número de hidroxilas são alguns dos parâmetros que determinam essa atividade antioxidante (GÓMEZ-RUIZ *et al.*, 2007). Os ácidos fenólicos e os flavonoides possuem eficiente propriedade sequestradora de radicais livres, doando um hidrogênio de seus grupos hidroxil (PRIOR, 2003; DAMODARAN *et al.*, 2010).

Alguns compostos fenólicos não se apresentam em forma livre nos tecidos vegetais, estando presentes sob a forma de taninos e ligninas. A ação dos taninos como sequestradores de radicais livres ocorre em função da interceptação do oxigênio ativo (SANTOS *et al.*, 2007).

Carotenoides

Os carotenoides são compostos poli-isoprenoides, possuindo como característica estrutural comum, a cadeia polieno, que é um longo sistema de ligações duplas conjugadas e

ricas em elétrons, responsáveis pela atividade antioxidante dos carotenoides (CONN *et al.*, 1991; McNULTY *et al.*, 2007). Esses compostos se dividem em dois grandes grupos, nos quais os principais carotenoides encontrados em produtos vegetais são o β -caroteno e licopeno, pertencentes ao grupo dos carotenos, além de luteína e zeaxantina, pertencentes ao grupo das xantofilas. Eles possuem ação antioxidante, agindo como importantes sequestradores de radicais livres (ROCHA, 2011), sendo, também, capazes de fazer a reciclagem de vitamina E através da doação de elétrons ao radical alfa-tocoferoxil (BÖHM *et al.*, 1997).

Tocoferóis

Os tocoferóis são um grupo de compostos que tem um sistema de anéis com hidroxilação com uma cadeia fitol. O alfa-tocoferol é a principal forma de vitamina E encontrada na maioria dos produtos de origem animal, podendo ser encontradas outras formas de tocoferóis e tocotrienóis, em proporções variadas, em produtos vegetais. Eles são moléculas apolares, que ocorrem na fase lipídica dos alimentos, podendo agir como antioxidantes, doando H^+ fenólico e um elétron (DAMODARAN *et al.*, 2010) e assim como os carotenoides, podem atuar na linha de defesa antioxidante.

Ácido ascórbico

O ácido ascórbico é uma vitamina solúvel em água. Trata-se de um nutriente que não apresenta exigência para aves, uma vez que pode ser sintetizado nos rins, sendo, porém, recomendado em situações de estresse excessivo (MACARI *et al.*, 2002). Sua ação antioxidante está na capacidade de doar elétrons para moléculas oxidadas, sendo um importante redutor de radicais superóxidos ($O_2^{\bullet-}$) e radicais hidroxila (OH^{\bullet}), além de reciclar a vitamina E pela doação de um átomo de hidrogênio (TANAKA *et al.*, 1997; DAVEY *et al.*, 2000). A vitamina C atua na oxidação lipídica como um agente quelante ou sequestrante, sendo considerada antioxidante secundário (CONEGLIAN *et al.*, 2011).

Influência da utilização de extratos vegetais com ação antioxidante sobre o desempenho e a qualidade dos ovos de poedeiras

Diversos pesquisadores no mundo têm realizado experimentos com fontes vegetais ricas em compostos com atividade antioxidante na alimentação de poedeiras, na busca pela melhoria do desempenho das aves e da qualidade dos ovos.

O alecrim é uma especiaria obtida de folhas secas que contém uma grande quantidade de diferentes compostos fenólicos com variadas atividades antioxidantes, sendo o ácido carnósico o maior constituinte fenólico presente nas folhas de alecrim com atividade antioxidante maior que os antioxidantes sintéticos BHA e BHT (RICHHEIMER *et al.*, 1996). Krause e Ternes (2000), identificaram o ácido carnósico na gema do ovo, quando adicionaram o extrato de alecrim na ração de poedeiras, em níveis de 0,28% e 0,57%. Enquanto que Galobart *et al.* (2001), compararam o efeito da inclusão do extrato de alecrim (500 e 1000ppm) na estabilidade oxidativa de ovos enriquecidos com ácidos graxos poli-insaturados ω -3. Os resultados obtidos demonstram que a adição deste extrato nestas concentrações não foi eficiente em retardar a oxidação lipídica dos ovos. Por outro lado, Parpinello *et al.* (2006), adicionaram o extrato de alecrim (500 e 1000ppm) em rações enriquecidas com ácidos graxos poli-insaturados ω -3 e observaram que a inclusão do antioxidante foi efetiva em manter as características sensoriais dos ovos.

Botsoglou *et al.* (2005) estudaram o efeito da adição de diferentes antioxidantes naturais (orégano, alecrim, açafraão e acetato de α -tocoferol) na ração de poedeiras e observaram diferenças na oxidação lipídica entre os tratamentos, tendo o orégano apresentado melhor efeito na estabilidade dos lipídeos que o extrato de alecrim. Entretanto, Handl *et al.* (2008), utilizando o extrato de orégano, na ração para codornas contendo 4% de linhaça, observaram que esse extrato antioxidante não foi efetivo em retardar a oxidação lipídica nos ovos, na concentração utilizada (2%). Posteriormente, Özekü *et al.* (2011) relataram melhoria significativa da altura do albúmen e valores de unidade Haugh, em ovos de poedeiras alimentadas com mistura de óleos essenciais de orégano, louro, sálvia, erva doce e citrus.

Zhao *et al.* (2011), adicionando gengibre em pó à ração de poedeiras e obtiveram aumento na massa de ovos produzidos e na estabilidade lipídica da ração e dos ovos durante o armazenamento. Botsoglou *et al.* (2012), usando folhas de oliveira na ração de poedeiras voltadas a ovos enriquecidos com ácidos graxos ω -3, promoveram maior estabilidade lipídica das gemas dos ovos.

Freitas *et al.* (2013) avaliaram o efeito de extratos etanólicos do caroço e da casca de manga e observaram que esses aditivos não afetaram o desempenho de poedeiras, mas melhoram a qualidade do albúmen e a estabilidade lipídica dos ovos, sendo o extrato etanólico

do caroço da manga mais eficiente do que o de casca em retardar a oxidação lipídica de ovos armazenados por até 60 dias.

A melhoria da qualidade do albúmen, medida pela unidade Haugh, como resposta à ação antioxidante da ração foi relatada por Kucuk *et al.* (2003), em trabalho sobre a adição conjunta de vitamina C e E à ração de poedeiras.

Galobart *et al.* (2001) utilizaram o α -tocoferol na ração de aves com o objetivo de evitar a oxidação em ovos enriquecidos com ω -3 e ω -6 e observaram que houve um aumento na estabilidade oxidativa dos ovos. Franchini *et al.* (2002) observaram uma diminuição em cerca de 40% na concentração de vitamina E de ovos armazenados após 60 dias a 4°C. Resultados semelhantes foram observados por Cherian *et al.* (2007), que perceberam a redução do α -tocoferol após 40 dias de armazenamento e por Hayat *et al.* (2010), que avaliaram o efeito do α -tocoferol durante um período de 60 dias de armazenamento dos ovos e observaram que o armazenamento reduz os níveis de ácidos graxos de cadeia longa ω -3 e ω -6 e que o nível de α -tocoferol nos ovos é estável até 40 dias de armazenagem, mas reduz rapidamente depois disso.

O uso das selenoproteínas como a fonte de suplementação de selênio aumenta a concentração deste mineral no ovo e interage com a concentração de vitamina E, que possui alta correlação com a concentração na dieta. A maior biodisponibilidade do selênio orgânico pode aumentar com a concentração de vitamina E no ovo.

Para Paton *et al.* (1998), a adição de selênio faz com que a demanda endógena de vitamina E diminua, resultando em uma transferência mais eficiente para o ovo. Entretanto, Paton *et al.* (2002) não registraram melhora na produção de ovos com a utilização de selênio orgânico. Para Surai (2002), a maior produção de ovos devido à utilização de selênio orgânico pode ser explicada por uma melhora na condição sanitária das aves ou pela interação com a vitamina E, propiciando maior estabilidade da membrana celular. A interação observada entre vitamina E e selênio evidencia os seus papéis no sistema de proteção antioxidante. Em estudos posteriores, Pan *et al.* (2010) forneceram níveis crescentes de selênio orgânico às rações de poedeiras semipesadas e observaram que a produção de ovos foi influenciada positivamente pela adição deste mineral nas dietas das poedeiras.

Rutz *et al.* (2003) utilizaram uma combinação de minerais orgânicos (zinco, selênio e manganês) e observaram melhora na produção de ovos, conversão alimentar, peso do albúmen e sua consistência (unidades Haugh) e peso da gema dos ovos de poedeiras durante um segundo ciclo de postura. A melhora na qualidade do albúmen aparentemente indica uma ação permissiva do selênio orgânico, resultando em uma situação onde o

estrogênio e/ou progesterona exercem a sua ação promovendo a deposição do albúmen com maior consistência no lúmen do magno. Em termos práticos, esta resposta pode contribuir para o aumento do tempo de prateleira e melhor aceitação pelo consumidor (Pan *et al.*, 2010).

Ações antioxidantes da manga

A mangueira (*Mangifera indica L.*) é uma planta da família *Anacardiaceae* e tem como fruto a manga, é produzida nas áreas tropicais e subtropicais do mundo, onde o clima favorece seu crescimento, como sul da Ásia, América do Norte, América do Sul, América Central, África e Austrália. Por se tratar de uma fruta sazonal, a maior parte da sua produção é processada, produzindo, em todo o mundo, grande volume de resíduos, que não são utilizados para nenhum fim comercial e são descartados, tornando-se uma fonte de poluição (DORTA *et al.*, 2013).

Huber *et al.* (2012) afirmam que a casca e o caroço da manga são boas fontes de antioxidantes naturais, pois contêm diferentes componentes com essa ação, como a provitamina A, na forma de β -caroteno, e as vitaminas C e E (PURAVANKARA *et al.*, 2000; ABDALLA *et al.*, 2007; AJILA *et al.*, 2007), além do composto fenol glicosilxantona, na forma de mangiferina, que tem atividade antioxidante comprovada (PURAVANKARA *et al.*, 2000; BERNARDINI *et al.*, 2005; ABDALLA *et al.*, 2007; BARRETO *et al.*, 2008).

De acordo com Schieber *et al.* (2003), entre os compostos polifenólicos já identificados na manga, estão a mangiferina, ácido gálico (ácidos m-digálico e m-trigálico), galotaninos, quercetina, isoquercetina, ácido elágico, e β -glucogálico e em relação aos flavonoides encontrados podemos citar: catequina, epicatequina, quercetina, isoquercetina (quercetina-3-glucosídeo), fisetina, e a astragalina (kempferol-3-glucosídeo). Esses compostos podem apresentar efeitos benéficos sobre a saúde humana, devido ao sequestro de radicais livres e às atividades antioxidantes (AUGUSTYNIAK *et al.*, 2005). As catequinas também podem ter efeito protetor contra a insuficiência cardíaca congestiva (ISHIKAWA *et al.*, 1997), câncer (YAMANAKA *et al.*, 1997), insuficiência renal aguda (CHANDER *et al.*, 2003), além de reduzir a incidência de isquemia miocárdica e servir de apoio ao antienvhecimento.

A ação antioxidante do extrato da casca da manga foi relatada por Pereira *et al.* (2010). Esses pesquisadores verificaram que, adicionado em mortadelas, o extrato etanólico da casca da manga apresentou efeito antioxidante que pode ser comparado ao do antioxidante sintético BHT. Por sua vez, Pereira *et al.* (2011), relataram ação antioxidante semelhante a do

BHT com a adição de 0,1 e 0,2% de extrato etanólico do caroço da manga em mortadelas. Segundo os autores, a ação antioxidante dos extratos etanólicos da manga pode ser atribuída à ação sinérgica de substâncias com atividade antioxidante, como os polifenóis, antocianinas, carotenoides e tocoferóis, que estão presentes nos extratos.

Freitas *et al.* (2012) relatam que a adição de 200 ou 400ppm dos extratos etanólicos obtidos da casca ou do caroço de manga não influenciaram o desempenho de frangos de corte, porém podem ser mais efetivos do que o antioxidante sintético BHT em retardar a oxidação lipídica da carne de frangos. Em estudo posterior, Freitas *et al.* (2013) avaliaram o efeito de extratos etanólicos do caroço e da casca da manga sobre a qualidade e estabilidade lipídica dos ovos de poedeiras, no qual observaram que os teores de 400ppm de extrato da casca da manga e 200 ou 400ppm de extrato do caroço da manga foram efetivos na prevenção de danos oxidativos aos ovos durante o armazenamento, e podem ser utilizados na alimentação das poedeiras como substituto aos antioxidantes sintéticos.

Diante do exposto, torna-se essencial o desenvolvimento de novas pesquisas que possam estudar mais profundamente os efeitos do extrato etanólico obtido do caroço da manga na tentativa de elucidar os mecanismos de ação e comprovar a sua eficiência para uso na alimentação de poedeiras, além de definir os níveis ótimos de sua utilização.

3 DESEMPENHO E QUALIDADE DOS OVOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras, sobre o desempenho e a qualidade interna e externa dos ovos frescos. Foram utilizadas 448 poedeiras comerciais Dekalb White, com 25 semanas de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e oito repetições de oito aves cada. Os tratamentos consistiram em sete rações formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas: T1 – ração sem adição de antioxidante; T2 – ração com adição de 200ppm do antioxidante sintético (BHT); T3 – ração com 200ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T4 – ração com 400ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T5 – ração com 600ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T6 – ração com 800ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T7 – ração com 1000ppm de extrato etanólico do caroço da manga. A utilização do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais não influenciou significativamente nenhuma das variáveis de desempenho e qualidade dos ovos. Conclui-se que a adição do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais, não afeta o desempenho e a qualidade interna e externa dos ovos no período de 25 a 66 semanas de idade.

Palavras-chave: Antioxidante natural. Consumo de ração. Conversão alimentar. *Mangifera indica*. Mangiferina. Produção de ovos.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of the inclusion of the ethanolic extract of the mango seed on laying hens diets, on performance and internal and external quality of fresh eggs. A total of 448 Dekalb White laying hens, 25 weeks old, were used and distributed in completely randomized design with seven treatments and eight replicates of eight birds each. The treatments consisted of seven diets formulated to be isoenergetic and isonutritives: T1 - diet without addition of antioxidant; T2 - diet with addition of 200ppm of the synthetic antioxidante (BHT); T3 - diet with 200ppm of ethanolic extract of the mango seed; T4 - diet with 400ppm of ethanolic extract of the mango seed; T5 - diet with 600ppm of ethanolic

extract of the mango seed; T6 - diet with 800ppm of ethanolic extract of the mango seed; T7 - diet with 1000ppm of ethanolic extract of the mango seed. The use of ethanolic extract of mango seed in laying hen diets did not significantly influence any of the variables for performance and egg quality. It is concluded that the ethanolic extract of mango seed in laying hen diets does not affect the parameters of performance and the internal and external quality of eggs from 25 to 66 weeks of age.

Key words: Egg production. Feed conversion. Feed intake. *Mangifera indica*. Mangiferin. Natural antioxidante.

INTRODUÇÃO

A oxidação lipídica é a deterioração de componentes importantes dos alimentos, como ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis, que afetam sua qualidade, aroma, sabor e valor nutricional, além de produzir substâncias potencialmente tóxicas (AMENSOUR *et al.*, 2010). Em rações para animais com ingredientes que apresentam elevada quantidade de ácidos graxos insaturados, como óleos de origem vegetal, a utilização de antioxidantes sintéticos ou naturais visa proteger seus constituintes dos efeitos da oxidação lipídica (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2009).

Nesse contexto, segundo Fischer *et al.* (2005), a prevenção dos danos oxidativos que possam ocorrer durante o armazenamento das rações até o momento do consumo pelas aves, com a adição de antioxidantes aos ingredientes ou às rações, permite a manutenção dos valores nutricionais e energéticos das dietas.

Sendo assim, os antioxidantes sintéticos comumente usados nas rações são o butilato de hidroxianisol (BHA) e o butilato de hidroxitolueno (BHT). Porém, segundo Luna *et al.* (2010), esses antioxidantes podem estar relacionados a uma possível ação carcinogênica, o que tem levado os consumidores a rejeitar produtos que os contenham. Dessa forma, tem-se aumentado o número de pesquisas com compostos antioxidantes naturais de diferentes partes das plantas, principalmente dos que apresentam, em sua composição, componentes fenólicos, como flavonoides, ácidos fenólicos e tocoferol, que retardam a oxidação e apresentam sinergismo com antioxidantes sintéticos (MELO *et al.*, 2003). Porém, é importante que estes aditivos não tenham efeito adverso no desempenho dos animais e na qualidade de seus produtos.

Portanto, há necessidade de estudos que visem retardar esse processo oxidativo (RADWAN *et al.*, 2008; HAYAT *et al.*, 2010). Diante disso, algumas pesquisas têm sido realizadas utilizando antioxidantes sintéticos e naturais na alimentação das aves com a finalidade de controlar esses processos de deterioração (HAYAT *et al.*, 2010).

A manga (*Mangifera indica L.*) apresenta na casca e no caroço, componentes que atuam como antioxidantes naturais, com destaque para a provitamina A, na forma de β -caroteno; vitaminas C e E (PURAVANKARA *et al.*, 2000; ABDALLA *et al.*, 2007; AJILA *et al.*, 2007); e o composto fenol glicosilxantona, sob a forma de mangiferina, de atividade antioxidante (PURAVANKARA *et al.*, 2000; BERNARDINI *et al.*, 2005; ABDALLA *et al.*, 2007). Barreto *et al.* (2008), ao avaliar extratos metanólicos da casca e do caroço da manga, de diferentes variedades, observaram riqueza de compostos polifenólicos e destacaram a atividade antioxidante da mangiferina.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da inclusão do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais, sobre o desempenho e a qualidade interna e externa dos ovos frescos.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição do resíduo e preparação do extrato

O resíduo da manga, constituído de caroços, foi obtido a partir da extração da polpa e adquirido na forma *in natura* em uma empresa de beneficiamento da fruta. Foi desidratado, em processo de pré-secagem, onde foi exposto ao sol sobre uma tela plástica, durante um período de 48 horas, posteriormente foi realizada a secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por aproximadamente 72 horas. Durante todo o período de secagem, o material foi revolvido duas vezes ao dia para facilitar a desidratação e evitar o surgimento de fungos. Depois de seco o material foi triturado.

A preparação dos extratos naturais do caroço da manga foi realizada no Laboratório de Extração de Produtos Naturais (LAEX), localizado nas instalações do Setor de Avicultura, do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo método de extração a frio utilizando os solventes orgânicos: hexano e etanol.

Inicialmente, o resíduo triturado foi colocado em recipientes de vidro onde permaneceu submerso em hexano por um período de sete dias a temperatura ambiente. Em seguida, o hexano foi removido e submetido à evaporação em evaporador rotativo a 50°C, rotação de 60rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente e obtenção do extrato hexânico. O solvente recuperado foi utilizado para re-extração por mais duas vezes com as mesmas condições da extração inicial. Os extratos hexânicos obtidos nas três extrações foram descartados e os resíduos foram utilizados para extração etanólica nas mesmas condições descritas para a extração hexânica. O extrato etanólico obtido foi acondicionado em recipiente de vidro e identificado para posterior utilização.

Determinação do potencial antioxidante, fenólicos totais e atividade antioxidante total do extrato etanólico do caroço da manga

Foram retiradas alíquotas do extrato para avaliação do potencial antioxidante, atividade antioxidante total e determinação de compostos fenólicos (Tabela 1), onde o butilato de hidroxitolueno (BHT) foi utilizado como padrão. O potencial antioxidante dos extratos foi avaliado pela capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil), de acordo com o procedimento descrito por Brand-Willians *et al.* (1995), sendo os resultados expressos em mg/L, 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 (RUFINO *et al.*, 2007). A análise dos compostos fenólicos 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. Potencial antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico do caroço da manga

Antioxidantes	DPPH ¹ IC50 (mg/L)	ABTS ² (µM TEAC/g)	Fenólicos Totais ³ (mg EqAG/g)
BHT ⁴	289,17	350,83	-
EECAR ⁵	175,66	518,68	95,5

¹ Radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil; ² Radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); ³ Compostos fenólicos; ⁴ Butil metil fenol ou hidroxitolueno; ⁵ Extrato etanólico do caroço da manga.

Experimento com aves

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal-CEPA, protocolo 22/2013. Realizado no Setor de Avicultura/DZ/CCA/UFC em um galpão convencional para criação de poedeiras, em gaiolas de arame galvanizado (25 x 40 x 45 cm) com capacidade para 2 aves por gaiola.

Foram adquiridas e alojadas 600 frangas de postura da linhagem comercial Dekalb White. Essas aves foram criadas conforme as recomendações de manejo para a linhagem até atingirem a idade para o início do experimento.

Para a condução do experimento, foram utilizadas 448 poedeiras com 25 semanas de idade. Essas aves foram selecionadas entre as 600 recebidas, com base no peso e produção de ovos e distribuídas uniformemente nas gaiolas, de modo que todas as repetições fossem constituídas por aves com pesos médio e produção de ovos similares, 1.519g e 98,88%, respectivamente, conforme recomendações de Sakomura e Rostagno (2007).

Delineamento, tratamentos e rações experimentais

As aves foram distribuídas ao acaso, em sete rações experimentais e oito repetições de oito aves cada. As rações foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas (Tabela 2), sendo: R1 – ração sem adição de antioxidante (controle); R2 – ração com adição de 200ppm do antioxidante sintético (BHT); R3 – ração com 200ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R4 – ração com 400ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R5 – ração com 600ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R6 – ração com 800ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R7 – ração com 1000ppm de extrato etanólico do caroço da manga.

As rações experimentais foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo manual da linhagem e foram considerados os valores nutricionais dos ingredientes apresentados por Rostagno *et al.* (2011).

O período experimental foi de 294 dias divididos em 14 períodos com duração de 21 dias cada. Durante todo o período experimental, as rações e água foram oferecidas à vontade e as aves foram submetidas a 16 horas de luz (natural e artificial).

O monitoramento das condições ambientais foi realizado por meio de termohigrômetro digital, cujas temperaturas e umidade relativa do ar foram registradas diariamente no início da manhã (08:00) e no final da tarde (16:00), sendo as médias de temperatura ambiente máxima e mínima e umidade relativa do ar no galpão, durante o período experimental de 31,46°C; 26,54°C e 73,90%, respectivamente.

Tabela 2. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais com extrato etanólico do caroço da manga para poedeiras comerciais

Ingredientes	Tratamentos						
	Controle ¹	BHT ² 200 (ppm)	EECAR ³ (ppm)				
			200	400	600	800	1000
Milho	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76
Farelo de soja (45%)	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Óleo de soja	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55
Fosfato bicálcico	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78
Calcário calcítico	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07
Sal comum	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
DL – metionina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Suplemento min./vit ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
EECAR ³	0,00	0,00	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
BHT ²	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Inerte	0,10	0,08	0,08	0,06	0,04	0,02	0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional calculado							
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850
Proteína bruta (%)	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Matéria seca (%)	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61
FDA (%)	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27
FDN (%)	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66
Cálcio (%)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Fósforo disponível (%)	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Sódio (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Lisina total (%)	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
Metionina + cistina total (%)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Metionina total (%)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Treonina total (%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Triptofano total (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22

¹Controle – Ração sem antioxidante; ²BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³EECAR – Extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ Níveis de garantia por kg do produto: vitamina A (min) 8.000.000 UI, vitamina B1 (min) 1.000mg, vitamina B12 (min) 6.000mcg, vitamina B2 (min) 3.000mg, vitamina B6 (min) 1.000 mg, vitamina D3 (min) 2.198.214 UI, vitamina E (min) 8.000 UI, vitamina K3 (min) 2.000mg, biotina (min) 20 mg, niacina (min) 20g, ácido fólico (min) 200mg, ácido pantotênico (min) 9.280 mg, cobalto (min) 100 mg, cobre (min) 6.000 mg, ferro (min) 50g, iodo (min) 1.000 mg, manganês (min) 50g, selênio (min) 200mg, zinco (min) 50 g, Bacillus subtilis 150x10e9 UFC.

Avaliação do desempenho das poedeiras

Para a avaliação do desempenho das aves foram usadas as seguintes variáveis: consumo de ração (g/ave/dia), porcentagem de postura (%/ave/dia), massa de ovo (g/ave/dia), conversão alimentar (kg de ração/kg de massa de ovo).

O consumo de ração foi calculado para cada repetição, pela diferença entre quantidade de ração fornecida no início e as sobras, ao final de cada período de 21 dias. A produção de ovos foi registrada diariamente para cada repetição e no final de cada período de 21 dias, foram calculadas as porcentagens de postura por repetição. A massa de ovo foi calculada por repetição em cada período a partir da multiplicação do peso médio dos ovos pela porcentagem de postura. Por fim, foi calculada a conversão alimentar, a partir dos dados de consumo de ração e da massa de ovo produzida para cada repetição por período.

Avaliação da qualidade interna e externa dos ovos frescos

Para a avaliação da qualidade dos ovos, 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/DZ/CCA/UFC, onde foram armazenados à temperatura de 22°C até o dia seguinte, para realização das medidas para o cálculo das seguintes variáveis de qualidade dos ovos: peso médio dos ovos (g), densidade específica (g/cm³), qualidade do albúmen (unidade Haugh), porcentagem de gema, albúmen e casca (%), espessura da casca (mm) e cor da gema do ovo.

Inicialmente foi calculado o peso médio dos ovos por meio de pesagens individuais de todos os ovos de cada repetição, em balança semianalítica, com sensibilidade de 0,01g. Posteriormente, foram selecionados três ovos por parcela para as demais avaliações. Determinou-se a densidade 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, com sensibilidade de 0,01g. Os dados foram anotados para o cálculo da densidade específica em software de planilhas eletrônicas.

A avaliação da qualidade do albúmen foi realizada com a determinação da unidade Haugh. Para isso, após a determinação da densidade específica, os ovos foram quebrados sobre uma superfície plana de vidro e com a utilização de um micrômetro de profundidade mediu-se a altura (mm) do albúmen denso. Com as medidas de peso do ovo no

ar e altura do albúmen foram calculadas as unidades Haugh: $UH = 100 \times \log (H + 7,57 - 1,7 \times P^{0,37})$, onde: UH = unidades Haugh; H = altura do albúmen em mm e P = peso do ovo em g.

Para determinar as porcentagens de cada constituinte dos ovos, as gemas foram separadas e pesadas em balança de precisão. As cascas foram separadas, lavadas e secas em estufa com circulação de ar e temperatura de 55 ° C, por 48 horas. Depois de secas foram pesadas. As porcentagens de gema e casca foram obtidas pela relação entre o peso de cada constituinte e o peso do ovo, multiplicando-se o valor obtido por 100. O percentual de albúmen foi obtido por diferença, onde: % albúmen = 100 – (% gema + % casca).

Após a pesagem das gemas, estas foram avaliadas quanto à cor, através da comparação visual com o leque colorimétrico da Roche®.

Para a determinação da espessura da casca, após a pesagem foram retirados fragmentos dos polos maior, menor e da região equatorial dos ovos para medida da espessura da casca em cada região com o uso de micrômetro digital com divisões de 0,01mm. A espessura da casca foi considerada como a média da espessura obtida nas três regiões do ovo.

Análises estatísticas dos dados

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 das variáveis de desempenho e qualidade externa e interna dos ovos foram submetidos à análise de variância pelo procedimento ANOVA, segundo um modelo inteiramente casualizado em esquema fatorial (7x14), sendo sete rações e 14 períodos de avaliação (idade das aves). A comparação das médias foi realizada pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desempenho das poedeiras

Os resultados médios de consumo de ração, produção de ovos, peso do ovo, massa do ovo e conversão alimentar, das poedeiras alimentadas com ração contendo extrato etanólico, no período de 25 a 66 semanas de idade, estão apresentados na Tabela 3.

Conforme apresentado, a utilização do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais não influenciou significativamente ($P>0,05$) nenhuma das variáveis avaliadas para desempenho.

Tabela 3. Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga no período de 25 à 66 semanas de idade

Fatores	Variáveis				
	Consumo (g/ave/dia)	Produção (%/ave/dia)	Peso dos Ovos (g)	Massa de Ovo (g/ave/dia)	Conversão Alimentar (g/g)
Ração					
Controle ¹	107,19	93,37	62,92	58,70	1,83
BHT ² , 200ppm	106,52	94,45	62,47	58,95	1,81
EECAR ³ , 200ppm	107,01	94,78	62,39	59,10	1,82
EECAR, 400 ppm	106,68	94,44	62,24	58,73	1,82
EECAR, 600 ppm	107,11	93,85	62,53	58,64	1,83
EECAR, 800 ppm	107,10	94,52	62,66	59,19	1,82
EECAR, 1000 ppm	106,94	94,76	62,43	59,11	1,81
Média	106,94	94,31	62,52	58,92	1,82
Períodos (idade)					
1 (25 à 27 sem.)	102,62c	98,20a	60,47g	59,39abc	1,73g
2 (28 à 30 sem.)	106,43b	97,72ab	61,28f	59,88ab	1,78ef
3 (31 à 33 sem.)	106,21b	96,80abc	62,20def	60,21 a	1,77fg
4 (34 à 36 sem.)	107,02b	96,84abc	61,86def	59,90ab	1,79ef
5 (37 à 39 sem.)	106,49b	97,10abc	62,10def	60,29 a	1,77fg
6 (40 à 42 sem.)	107,08b	96,42abc	61,54def	59,34abc	1,81def
7 (43 à 45 sem.)	106,84b	95,54bcd	61,56def	58,80abc	1,82cde
8 (46 à 48 sem.)	106,67b	94,14de	61,45ef	57,84cd	1,85bcd
9 (49 à 51 sem.)	106,60b	94,93cd	62,43de	59,24abc	1,80def
10 (52 à 54 sem.)	106,95b	92,57e	62,53d	57,85cd	1,85bc
11 (55 à 57 sem.)	108,43a	89,93f	63,40c	57,00d	1,91a
12 (58 à 60 sem.)	108,09a	90,40f	64,14b	57,96cd	1,87ab
13 (61 à 63 sem.)	108,79a	89,79f	64,94a	58,31bcd	1,88ab
14 (64 à 66 sem.)	108,93a	89,78f	65,45a	58,74abc	1,86abc
Efeitos - ANOVA ⁵	<i>p-valor</i>				
Ração	0,1407	0,1389	0,1272	0,7083	0,4954
Período	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Ração x Período	0,5632	0,9692	1,000	0,9976	0,9845
Análise de Regressão	<i>p-valor</i>				
Linear	0,9891	0,1216	0,4249	0,2611	0,2833
Quadrática	0,9417	0,1151	0,5178	0,2108	0,2322

CV ⁴ (%)	1,91	4,53	2,86	5,10	5,27
Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si, pelo teste SNK, a 5% de probabilidade; ¹ Controle – Ração sem antioxidante; ² BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³ EECAR – Extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ CV – Coeficiente de variação; ⁵ ANOVA – Análise de variância.					

Na análise de variância, observou-se que não houve interação significativa entre os fatores, tratamento e período sobre nenhum dos parâmetros de desempenho avaliados. No entanto, houve efeito ($P < 0,05$) do período para todas as variáveis de desempenho. Conforme os resultados, com o avançar da idade das aves, pôde-se observar aumento no consumo de ração, redução da porcentagem de postura, com aumento do peso dos ovos e piora sobre os valores de conversão alimentar.

Considerando que os tratamentos não influenciaram significativamente as variáveis de desempenho das poedeiras, isso indica que a adição do antioxidante sintético (BHT) e do extrato etanólico do caroço da manga, nos diferentes níveis, não proporcionou melhora no desempenho das aves nas diferentes idades avaliadas.

A utilização de compostos fenólicos na ração é importante, visto que são potenciais fontes de antioxidantes (ANGELO; JORGE, 2007). Estes em menores concentrações, podem proteger o alimento da deterioração oxidativa. Entretanto, em altas concentrações, os compostos fenólicos podem contribuir para a adstringência e sabor amargo dos alimentos (VIEIRA *et al.*, 2011). Desta forma, a adição do extrato não causou alterações na palatabilidade da ração, tendo em vista que o consumo pelas aves alimentadas sem antioxidante (controle) ou com BHT, não diferiu significativamente daqueles apresentados pelas aves alimentadas com os diferentes níveis de inclusão do extrato.

Por outro lado, como as galinhas poedeiras ajustam o consumo de ração pelos níveis energéticos do alimento (GROBAS *et al.*, 2001) e como as rações experimentais foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas, só haveria diferenças no consumo se os nutrientes da ração e, conseqüentemente, a sua energia metabolizável fossem influenciados pelos tratamentos, visto que, a lipoperoxidação reduz o teor de ácidos graxos da fração lipídica do alimento (ENGBERG *et al.*, 1996); podendo resultar em diminuição nos valores de energia metabolizável (LEESON; SUMMERS, 2001; RACANICCI *et al.*, 2004) e levando ao aumento no consumo de ração pelas aves.

Entretanto, como o consumo não variou entre os tratamentos, pode-se afirmar que o aproveitamento dos nutrientes da ração e, conseqüentemente, a sua energia metabolizável, não foram influenciados por uma possível oxidação dos lipídeos durante o período experimental.

A semelhança dos resultados entre os tratamentos para produção de ovos, peso e massa dos ovos pode ser associada ao atendimento das exigências nutricionais das aves, tendo em vista que a quantidade de alimento ingerido não variou entre os tratamentos. Por sua vez, a conversão alimentar é obtida a partir da relação entre o consumo de ração e a massa dos ovos, justificando a ausência de efeito significativo ($P>0,05$) para esta variável, como um reflexo dos resultados encontrados para consumo de ração e massa dos ovos.

Os resultados obtidos se assemelham aos relatados por Freitas *et al.* (2013) que também observaram ausência de efeito significativo sobre as variáveis de desempenho com a adição dos extratos etanólicos obtidos do caroço e da casca da manga (200 ou 400 ppm) na alimentação de poedeiras.

Além disso, os resultados também corroboram com o fato de que os extratos utilizados apresentam uma característica importante dos antioxidantes naturais que é de não exercer efeito fisiológico negativo (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005) e assim, não interferir sobre os parâmetros de desempenho animal. Assim como a ausência de influência significativa de fontes naturais de antioxidantes sobre o desempenho das galinhas pode ser constatada em outras pesquisas (ÖZEKU *et al.*, 2011; BOZKURT *et al.*, 2012).

Quanto às diferenças observadas entre o consumo de ração, produção de ovos, peso dos ovos e conversão alimentar com o avançar da idade, estas podem ser consideradas normais dentro das características do padrão de produção esperado para aves poedeiras.

Assim, o aumento no consumo de ração com o avançar da idade pode ser associado ao aumento do tamanho da ave que continua crescendo até atingir a maturidade física. Esse aumento no tamanho físico das aves aumenta a necessidade de ingestão de nutriente para manutenção do peso corporal e ganho de peso. Por outro lado, o aumento do tamanho dos ovos também contribui para aumentar a necessidade de ingestão de nutrientes.

Por sua vez, em um lote de poedeiras é normal, após o pico de postura, a produção se manter por alguns dias e em seguida haver a redução na percentagem de postura com o avançar da idade.

O aumento no tamanho do ovo está relacionado ao aumento do tamanho da ave, de modo que este tende a se estabilizar com a maturidade física das poedeiras. Entretanto, embora o tamanho dos ovos aumente com a idade, a massa de ovos não variou significativamente, certamente em função da redução na produção de ovos.

Quanto à conversão alimentar o resultado pode ser associado ao aumento no consumo de ração sem que houvesse aumento na massa de ovos produzida pelas aves.

Qualidade interna e externa dos ovos

Os resultados médios de porcentagem de gema, albúmen e casca, densidade específica, unidades Haugh e espessura da casca, das poedeiras alimentadas com ração contendo extrato etanólico do caroço da manga no período de 25 a 66 semanas de idade, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Característica e qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço de manga no período de 25 à 66 semanas de idade

Fatores	Parâmetros					
	Gema (%)	Albúmen (%)	Casca (%)	Densidade específica (g/cm ³)	Unidades Haugh	Espessura de casca (mm)
Ração						
Controle ¹	25,25	64,91	9,84	1,083	84,97	0,34
BHT ² , 200ppm	25,39	64,78	9,83	1,083	84,93	0,34
EECAR ³ , 200ppm	25,35	64,80	9,85	1,083	84,97	0,34
EECAR, 400ppm	25,42	64,73	9,85	1,083	84,95	0,34
EECAR, 600ppm	25,28	64,89	9,84	1,082	84,81	0,34
EECAR, 800ppm	25,37	64,78	9,85	1,082	85,28	0,34
EECAR, 1000ppm	25,31	64,82	9,86	1,082	85,31	0,34
Média	25,34	64,82	9,85	1,083	85,03	0,34
Períodos (Idade)						
1 (25 à 27 sem.)	23,59f	65,96a	10,45a	1,086b	90,40a	0,38a
2 (28 à 30 sem.)	23,85e	65,89a	10,26b	1,088a	88,22c	0,36b
3 (31 à 33 sem.)	24,74d	65,12bc	10,15c	1,083d	88,87b	0,35def
4 (34 à 36 sem.)	25,39c	65,52d	10,09c	1,088a	84,58e	0,35cde
5 (37 à 39 sem.)	25,54bc	64,39d	10,07c	1,087a	83,49f	0,35bcd
6 (40 à 42 sem.)	25,76ab	64,28d	9,96d	1,086b	85,08e	0,35f
7 (43 à 45 sem.)	25,72ab	64,36d	9,93de	1,085bc	86,18d	0,36bc
8 (46 à 48 sem.)	25,90a	64,30d	9,80f	1,084c	83,59f	0,34g
9 (49 à 51 sem.)	25,49bc	64,54d	9,97d	1,083d	83,82f	0,34g
10 (52 à 54 sem.)	25,70ab	64,43d	9,87ef	1,081e	83,75f	0,35ef
11 (55 à 57 sem.)	25,92a	64,54d	9,54g	1,075g	83,77f	0,31h
12 (58 à 60 sem.)	25,71ab	64,89c	9,40h	1,077f	84,53e	0,31h
13 (61 à 63 sem.)	25,73ab	64,93c	9,34h	1,077f	82,44g	0,31h
14 (64 à 66 sem.)	25,69ab	65,27b	9,04i	1,076f	81,75h	0,30i
ANOVA ⁵				<i>p-valor</i>		
Ração	0,1158	0,1903	0,9320	0,4250	0,1209	0,0997
Período	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Ração x Período	1,000	1,000	1,000	0,4193	0,9999	0,3926
Regressão				<i>p-valor</i>		
Linear	0,9470	0,8086	0,7442	0,2896	0,4235	0,2786
Quadrática	0,9743	0,8707	0,7031	0,3651	0,3076	0,2951
CV ⁴ (%)	1,92	0,87	2,02	0,22	1,82	3,20

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, pelo teste SNK, a 5% de probabilidade; ¹Controle – Ração sem antioxidante; ² BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³EECAR – Extrato etanólico do caroço de manga; ⁴CV – Coeficiente de variação; ⁵ANOVA – Análise de variância.

Conforme apresentado, a utilização do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais não influenciou significativamente ($P>0,05$) nenhuma das variáveis avaliadas para qualidade interna e externa dos ovos frescos de poedeiras comerciais.

Com base na análise de variância, observou-se que não houve interação significativa entre os fatores, tratamento e período, sobre nenhum dos parâmetros para qualidade dos ovos. No entanto, houve efeito ($P<0,05$) do período para todas estas variáveis. Conforme os resultados, com o avançar da idade das aves, pôde-se observar aumento na porcentagem de gema e redução da porcentagem de albúmen e casca, assim como redução dos valores de densidade específica, unidades Haugh e espessura da casca.

Conforme os resultados as características de qualidade externa e interna dos ovos medidas pela proporção de gema, albúmen e casca, densidade específica, valores de unidades Haugh e espessura da casca dos ovos não foram influenciadas pelos tratamentos. Isso indica que a adição do antioxidante sintético BHT ou dos diferentes níveis de adição do extrato do caroço da manga não trouxeram benefícios para a qualidade interna e a casca dos ovos.

Do ponto de vista da nutrição, em condições normais, para se obter ovos de qualidade interna e externa satisfatória, é necessário que as aves recebam os nutrientes em quantidades suficientes para atender aos processos metabólicos envolvidos na formação dos ovos. Assim, prioritariamente, os ácidos graxos essenciais serão fundamentais para formação da gema, os aminoácidos para formação do albúmen e os minerais para formação da casca. Uma deficiência desses nutrientes pode afetar a proporção e qualidade dos constituintes dos ovos. Nesse contexto, a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis pode ser associada ao consumo de ração semelhante entre os tratamentos e aproveitamento de nutrientes pelas aves.

Alguns pesquisadores, relataram que a oxidação da gordura da ração pode causar sintomas de carência de vitamina D, substância essencial à absorção e mobilização do cálcio no organismo das aves, prejudicando a formação da casca do ovo (LEESON; SUMMERS,2001). Dessa forma, Pita *et al.* (2004) verificaram uma significativa redução no peso da casca de ovos em que as aves foram alimentadas com rações contendo alto nível de ácidos graxos poli-insaturados sem a adição de tocoferol, e que quando estas rações foram suplementadas com o antioxidante, houve incremento no valor percentual da casca.

Entretanto, na presente pesquisa, tanto a porcentagem de casca como a densidade específica, variáveis que estão associadas à qualidade da casca, não variaram significativamente entre os tratamentos, indicando a ausência de efeito da adição ou não de antioxidante na ração sobre a qualidade da casca dos ovos. Vale ressaltar, que as rações

utilizadas durante o experimento eram fabricadas a cada período de 21 dias e, por isso, o tempo em que estas permaneciam armazenadas antes de serem consumidas pelas aves pode ter sido insuficiente para que ocorresse oxidação lipídica na ração ao ponto de influenciar a formação da casca dos ovos.

Os resultados obtidos na presente pesquisa corroboram em parte aos observados por Freitas *et al.* (2013). Segundo os pesquisadores, a adição dos extratos etanólicos do caroço e da casca da manga não influenciaram a proporção de albúmen e gema, a densidade específica e a espessura da casca. Entretanto, a adição de antioxidante promoveu melhora na qualidade do albúmen medida pelas unidades Haugh. Para os pesquisadores, os processos de oxidação lipídica naturais do organismo podem prejudicar a qualidade do albúmen produzido no oviduto e que esse efeito pode ser reduzido com a adição do antioxidante BHT na ração ou os extratos da manga, independente da dose e origem, pois estes demonstraram atividade antioxidante protegendo o oviduto das galinhas dos efeitos deletérios da oxidação, favorecendo a síntese de proteína do albúmen, melhorando os valores de unidade Haugh.

Vale ressaltar que os resultados apresentados nessa pesquisa são para aves no início do ciclo de postura e, portanto, mais jovens que as utilizadas por Freitas *et al.* (2013). Dessa forma, é possível que os benefícios dos antioxidantes possam ser mais expressivos quando as aves, depois de um longo período de produção, irão apresentar naturalmente pior qualidade externa e interna dos ovos.

Quanto ao efeito do período sobre a qualidade dos ovos, assim como para as variáveis de desempenho, as alterações observadas podem ser consideradas normais dentro das características do padrão de produção esperado para aves poedeiras.

Com o avançar da idade, o tamanho dos ovos das poedeiras aumenta e, também, muda a proporção de seus constituintes, havendo aumento da proporção da gema, e redução na proporção de albúmen e casca. A capacidade da poedeira em aumentar a produção de casca não acompanha na mesma proporção o aumento do tamanho dos ovos. Assim, a redução em sua proporção resulta em uma menor espessura de casca, uma vez que a superfície a ser recoberta pelo material será maior. A redução na espessura da casca vai refletir diretamente nos valores de densidade específica dos ovos.

Quanto à redução na qualidade do albúmen medida pelas unidades Haugh com o avançar da idade, esse efeito pode ser associado a uma perda gradual da capacidade das poedeiras de manter a qualidade da proteína sintetizada para a formação do albúmen, além de um aumento da proporção de água no albúmen.

CONCLUSÃO

O extrato etanólico do caroço da manga não afeta os parâmetros de desempenho e a qualidade interna e externa dos ovos de poedeiras comerciais no período de 25 a 66 semanas de idade.

4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE OVOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da adição do extrato etanólico do caroço da manga em rações de poedeiras comerciais, sobre os compostos fenólicos totais, capacidade e atividade antioxidante e estabilidade lipídica dos ovos. Foram utilizadas 448 poedeiras comerciais Dekalb White, com 25 semanas de idade, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e oito repetições de oito aves cada. Os tratamentos consistiram em sete rações formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas: T1 – ração sem adição de antioxidante; T2 – ração com adição de 200ppm do antioxidante sintético (BHT); T3 – ração com 200ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T4 – ração com 400ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T5 – ração com 600ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T6 – ração com 800ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T7 – ração com 1000ppm de extrato etanólico do caroço da manga. Na gema dos ovos frescos, foram determinados os compostos fenólicos totais, a capacidade antioxidante por meio do método de sequestro do radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picril-hidrazil), a atividade antioxidante pelo método ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) e quantificadas as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a quantidade de compostos fenólicos e peroxidação lipídica nas gemas dos ovos. Entretanto, observou-se diferença significativa entre os tratamentos para a capacidade e atividade antioxidante *in vitro* das gemas, com níveis ótimos estimados de 750ppm e 530ppm para os métodos de DPPH e ABTS, respectivamente. No entanto, ficou evidente efeito pró-oxidante de níveis superiores a este, visto que a capacidade antioxidante diminuiu.

Palavras-chave: Antioxidante natural. Dekalb White. Estabilidade lipídica. *Mangifera indica*. Mangiferina. Oxidação lipídica.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effects of ethanolic extract of mango seed in commercial laying hen diets on phenolic compounds, antioxidant capacity, antioxidant activity and lipid

stability of eggs. A total of 448 Dekalb White laying hens, 25 weeks old, were used and distributed in a completely randomized design with seven treatments and eight replicates of eight birds each. The treatments consisted of seven diets formulated to be isoenergetic and isonutritives: T1 - diet without addition of antioxidant; T2 - diet with addition of 200ppm of the synthetic antioxidant (BHT); T3 - diet with 200ppm of ethanolic extract of mango seed; T4 - ration with 400ppm of ethanolic extract of mango seed; T5 - ration with 600ppm of ethanolic extract of mango seed; T6 - ration with 800ppm of ethanolic extract of mango seed; T7 - ration with 1000ppm of ethanolic extract of mango seed. In the fresh egg yolk, total phenolic compounds and antioxidant capacity were determined by the free radical DPPH(2,2 difenil-1-picril-hidrazil)scavenger method, antioxidant activity by ABTS(2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sufonic acid) method.Thiobarbituric acid reactive substances were also quantified. There was no significant difference between treatments for the amount of phenolic compounds and lipid peroxidation in the egg yolks. However, a significant difference was observed between the treatments for *in vitro* antioxidant activity of the yolk evaluated by the DPPH(2,2 difenil-1-picril-hidrazil) and ABTS(2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6- sufonic acid) methods, with optimal estimated levels of 750ppm and 530ppm for the DPPH and ABTS methods, respectively. However, a pro-oxidant effect of levels higher than this was evident, since the antioxidant capacity decreased.

Key words: Dekalb White.Lipid oxidation.Lipid stability.*Mangifera indica*.Mangiferin.Natural antioxidante.

INTRODUÇÃO

Segundo Scott *et al.* (1982), o processo de oxidação lipídica é a principal causa da perda da qualidade dos alimentos, sendo considerada a deterioração mais importante, pois afeta a qualidade, o aroma, o sabor e o valor nutricional dos alimentos, além de resultar na produção de compostos tóxicos (AMENSOUR *et al.*, 2010), que quando formados podem causar o desenvolvimento de numerosas doenças, incluindo a aterosclerose e o câncer (ZHOU; DECKER, 1999).

Nesse contexto, o ovo é uma excelente fonte de ácidos graxos essenciais que, como em qualquer alimento, estão sujeitos à oxidação lipídica, principalmente durante a estocagem (HAYAT *et al.*, 2010). Embora o processo oxidativo em ovos não seja visto como

um problema, o crescimento da produção de ovos enriquecidos com ácidos graxos poli-insaturados pode aumentar a sua suscetibilidade à peroxidação. Portanto, há necessidade de estudos que visem retardar esse processo oxidativo (RADWAN *et al.*, 2008; HAYAT *et al.*, 2010). Diante disso, algumas pesquisas têm sido realizadas utilizando antioxidantes sintéticos e naturais na alimentação das aves com a finalidade de controlar esses processos de deterioração (HAYAT *et al.*, 2010).

Os antioxidantes sintéticos comumente usados nas rações são o butilato de hidroxianisol (BHA) e o butilato de hidroxitolueno (BHT). Porém, segundo Luna *et al.* (2010), esses antioxidantes podem estar relacionados a uma possível ação carcinogênica, o que tem levado os consumidores a rejeitar produtos que os contenham. Dessa forma, é importante se buscar antioxidantes naturais que possam ser utilizados como substitutos aos antioxidantes sintéticos.

Assim, diversas pesquisas vêm sendo realizadas com poedeiras comerciais, utilizando algumas fontes vegetais ricas em compostos com atividade antioxidante, no qual tem sido relatado que fontes de orégano (*Origanum sp.*), alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), tomilho (*Thymus vulgaris*), açafrão (*Cúrcuma Longa L.*), gengibre em pó (*Zingiber officinale*) e folhas de oliveira (*Olea europea L.*) podem estar associadas à melhoria do desempenho produtivo das aves e da qualidade dos ovos, além de promover uma maior estabilidade lipídica das gemas dos ovos (RADWAN *et al.*, 2008; HAYAT *et al.*, 2010; LUNA *et al.*, 2010; ZHAO *et al.*, 2011; ÖZEKU *et al.*, 2011; BOTSOGLOU *et al.*, 2012).

Por sua vez, estudos têm demonstrado que a manga (*Mangifera indica L.*), também pode apresentar uma certa atividade antioxidante. Todavia, por se tratar de uma fruta sazonal, a maior parte da sua produção é processada, produzindo, em todo o mundo, grande volume de resíduos, que não são utilizados para nenhum fim comercial e são descartados, tornando-se uma fonte de poluição (DORTA *et al.*, 2013).

No entanto, segundo Huber *et al.* (2012), a casca e o caroço da manga também são boas fontes de antioxidantes naturais, pois contêm diferentes componentes com essa ação, como a provitamina A, na forma de β -caroteno, e as vitaminas C e E (PURAVANKARA *et al.*, 2000; ABDALLA *et al.*, 2007; AJILA *et al.*, 2007), além do composto fenol glicosilxantona, na forma de mangiferina, que tem atividade antioxidante comprovada (PURAVANKARA *et al.*, 2000; BERNARDINI *et al.*, 2005; ABDALLA *et al.*, 2007; BARRETO *et al.*, 2008).

Freitas *et al.* (2012), relataram que a adição de 200 ou 400ppm dos extratos etanólicos obtidos da casca ou do caroço de manga não influenciaram o desempenho de frangos de corte, porém podem ser mais efetivos do que o antioxidante sintético BHT em retardar a oxidação lipídica da carne de frangos. Em estudo posterior, Freitas *et al.* (2013), avaliaram o efeito de extratos etanólicos do caroço e da casca da manga, sobre a qualidade e estabilidade lipídica dos ovos de poedeiras, no qual observaram que os teores de 400ppm de extrato da casca da manga e 200 ou 400ppm de extrato do caroço da manga foram efetivos na prevenção de danos oxidativos aos ovos durante o armazenamento, e podem ser utilizados na alimentação das poedeiras como substitutos aos antioxidantes sintéticos.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais, sobre a capacidade antioxidante e estabilidade lipídica dos ovos.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição do resíduo e preparação do extrato

O resíduo da manga, constituído de caroços, foi obtido a partir da extração da polpa e adquirido na forma *in natura* em uma empresa de beneficiamento da fruta. Foi desidratado, em processo de pré-secagem, onde foi exposto ao sol sobre uma tela plástica, durante um período de 48 horas, posteriormente foi realizada a secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por aproximadamente 72 horas. Durante todo o período de secagem, o material foi revolvido duas vezes ao dia, para facilitar a desidratação e evitar o surgimento de fungos. Depois de seco o material foi triturado.

A preparação dos extratos naturais do caroço da manga foi realizada no Laboratório de Extração de Produtos Naturais (LAEX), localizado nas instalações do Setor de Avicultura, do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo método de extração a frio utilizando os solventes orgânicos: hexano e etanol.

Inicialmente, o resíduo triturado foi colocado em recipientes de vidro onde permaneceu submerso em hexano por um período de sete dias a temperatura ambiente. Em seguida, o hexano foi removido e submetido à evaporação em evaporador rotativo a 50°C, rotação de 60rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente e obtenção do extrato hexânico. O solvente recuperado foi utilizado para re-extração por mais duas vezes com as

mesmas condições da extração inicial. Os extratos hexânicos obtidos nas três extrações foram descartados e os resíduos foram utilizados para extração etanólica nas mesmas condições descritas para a extração hexânica. O extrato etanólico obtido foi acondicionado em recipiente de vidro e identificado para posterior utilização.

Determinação do potencial antioxidante, fenólicos totais e atividade antioxidante total do extrato etanólico do caroço da manga

Foram retiradas alíquotas do extrato para avaliação do potencial antioxidante, atividade antioxidante total e determinação de compostos fenólicos (Tabela 5), onde o butilato de hidroxitolueno (BHT) foi utilizado como padrão. O potencial antioxidante dos extratos foi avaliado pela capacidade de sequestro do radical DPPH, de acordo com o procedimento descrito por Brand-Willians *et al.* (1995), sendo os resultados expressos em mg/L, 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 (RUFINO *et al.*, 2007). A análise dos compostos fenólicos 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 5. Potencial antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico do caroço da manga

Antioxidantes	DPPH ¹ IC50 (mg/L)	ABTS ² (μM TEAC/g)	Fenólicos Totais ³ (mg EqAG/g)
BHT ⁴	289,17	350,83	-
EECAR ⁵	175,66	518,68	95,5

¹ Radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil; ² Radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); ³ Compostos fenólicos; ⁴ Butil metil fenol ou hidroxitolueno; ⁵ Extrato etanólico do caroço da manga.

Experimento com aves

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal-CEPA, protocolo 22/2013. Realizado no Setor de Avicultura/DZ/CCA/UFC em um galpão convencional para criação de poedeiras, em gaiolas de arame galvanizado (25 x 40 x 45 cm) com capacidade para 2 aves por gaiola.

Foram adquiridas e alojadas 600 frangas de postura da linhagem comercial Dekalb White. Essas aves foram criadas conforme as recomendações de manejo para a linhagem até atingirem a idade para o início do experimento.

Para a condução do experimento, foram utilizadas 448 poedeiras com 25 semanas de idade. Essas aves foram selecionadas entre as 600 recebidas, com base no peso e produção de ovos e distribuídas uniformemente nas gaiolas, de modo que todas as repetições fossem constituídas por aves com pesos e produção de ovos similares, 1.519g e 98,88%, respectivamente, conforme recomendações de Sakomura e Rostagno (2007).

Delineamento, tratamentos e rações experimentais

As aves foram distribuídas ao acaso, em sete rações experimentais e oito repetições de oito aves cada. As rações foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas (Tabela 6), sendo: R1 – ração sem adição de antioxidante (controle); R2 – ração com adição de 200ppm do antioxidante sintético (BHT); R3 – ração com 200ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R4 – ração com 400ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R5 – ração com 600ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R6 – ração com 800ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R7 – ração com 1000ppm de extrato etanólico do caroço da manga.

As rações experimentais foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo manual da linhagem e foram considerados os valores nutricionais dos ingredientes apresentados por Rostagno *et al.* (2011).

O período experimental foi de 294 dias divididos em 14 períodos com duração de 21 dias cada. Durante todo o período experimental, as rações e água foram oferecidas à vontade e as aves foram submetidas a 16 horas de luz (natural e artificial).

O monitoramento das condições ambientais foi realizado por meio de termohigrômetro digital, cujas temperaturas e umidade relativa do ar foram registradas diariamente no início da manhã (08:00) e no final da tarde (16:00), sendo as médias de temperatura ambiente máxima e mínima e umidade relativa do ar no galpão, durante o período experimental de 31,46°C; 26,54°C e 73,90%, respectivamente.

Tabela 6. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais com extrato etanólico do caroço da manga para poedeiras comerciais

Ingredientes	Tratamentos						
	Controle ¹	BHT ² 200 (ppm)	EECAR ³ (ppm)				
			200	400	600	800	1000
Milho	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76
Farelo de soja (45%)	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Óleo de soja	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55
Fosfato bicálcico	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78
Calcário calcítico	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07
Sal comum	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
DL – metionina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Suplemento min./vit ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
EECAR ³	0,00	0,00	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
BHT ²	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Inerte	0,10	0,08	0,08	0,06	0,04	0,02	0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional calculado							
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850
Proteína bruta (%)	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Matéria seca (%)	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61
FDA (%)	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27
FDN (%)	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66
Cálcio (%)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Fósforo disponível (%)	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Sódio (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Lisina total (%)	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
Metionina + cistina total (%)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Metionina total (%)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Treonina total (%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Triptofano total (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22

¹Controle – Ração sem antioxidante; ²BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³EECAR – Extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ Níveis de garantia por kg do produto: vitamina A (min) 8.000.000 UI, vitamina B1(min) 1.000mg, vitamina B12 (min) 6.000mcg, vitamina B2 (min) 3.000mg, vitamina B6 (min) 1.000 mg, vitamina D3 (min) 2.198.214 UI, vitamina E (min) 8.000 UI, vitamina K3 (min) 2.000mg, biotina (min) 20 mg, niacina (min) 20g, ácido fólico (min) 200mg, ácido pantotênico (min) 9.280 mg, cobalto (min) 100 mg, cobre (min) 6.000 mg, ferro (min) 50g, iodo (min) 1.000 mg, manganês (min) 50g, selênio (min) 200mg, zinco (min) 50 g, Bacillus subtilis 150x10e9 UFC.

Determinação dos compostos fenólicos das gemas dos ovos frescos

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 0,750g de gema desidratada, foram adicionados 20ml de metanol (70:30) e procedida a homogeneização por 40 minutos, em agitador magnético. O extrato foi centrifugado por 10 minutos, a 1000 G, e o sobrenadante filtrado em papel comum contendo sulfato de sódio anidro.

Na alíquota de 0,25ml do extrato foram adicionados 0,25ml do reagente de Folin-Ciocalteu, 2ml de água destilada e, após 3 minutos, 0,25ml de solução saturada de carbonato de sódio. A mistura foi homogeneizada e incubada em banho de água aquecida a 37°C por 30 minutos e depois novamente centrifugada por 10 minutos a 1000 G.

A absorbância foi lida em espectrofotômetro (750 nm). Os fenólicos totais foram expressos em mg de ácido gálico/100g de amostra, a partir da curva de calibração obtida com soluções padrão de ácido gálico em metanol (70:30), com concentrações entre 1 a 40 mg/L.

Determinação da capacidade antioxidante (DPPH) das gemas dos ovos frescos

A capacidade antioxidante foi determinada utilizando o método de sequestro do radical livre DPPH, baseado na sua captura por antioxidantes e produzindo um decréscimo da absorbância. A gema do ovo desidratado, previamente reconstituído, (12,5g de gema para 37,5g de água destilada), foi extraída em metanol (1:10 v/v), por 1 hora sob agitação (SMET; RAES; SMET, 2006).

A medida da capacidade antioxidante pelo método de DPPH do extrato metanólico em ovo foi sugerida por Arabshahi-Delouee e Urooj (2007), e adaptada. No ensaio, 1ml do extrato metanólico da gema foi misturada a 3ml da solução de DPPH, em metanol (6.10⁻⁵ Mol/L), sendo mantido por 30 minutos à temperatura ambiente na ausência de luz. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (517nm). Para o cálculo do sequestro do radical livre foi utilizada a equação:

$$\% \text{ capacidade antioxidante DPPH} = [(\text{abs controle} - \text{abs amostra}) / \text{abs controle}] * 100$$

Determinação da atividade antioxidante (ABTS) das gemas dos ovos frescos

A atividade antioxidante total (AAT) foi determinada por meio de ensaio com o radical livre ABTS^{°+}, obtido pela reação de 5ml de ABTS (7 mmol/L) com 88µl 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 no item anterior, em ambiente escuro preparou-se em tubos de ensaio, uma alíquota de 30µL de cada amostra com 3,0ml do radical ABTS^{°+} que foi homogeneizado em vórtex. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 734nm, após 6 minutos da mistura. Foi utilizado o álcool etílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. As curvas padrões de Trolox, foram expressas em capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) e os resultados foram expressos em em µM TEAC/ g de amostra.

Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) das gemas dos ovos frescos

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foram determinadas pelo método de extração ácido aquosa, com adaptações (Cherian *et al.*, 2002). Em um tubo de 15mL, aproximadamente 2g da amostra foram homogeneizados (1 minuto) com 6,75mL de ácido perclórico (3,86%) e 18,75µL de BHT (4,5%). O homogeneizado foi filtrado e 0,75mL foram transferidos para tubos de ensaio, juntamente com 0,75mL de ácido 2-tiobarbitúrico (20 mM).

Os tubos foram incubados em banho de água aquecida por 30 minutos. Após o resfriamento até a temperatura ambiente, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 545nm. Utilizou-se o branco preparado com 0,75mL de ácido perclórico e 0,75mL da solução de TBA. O número de TBARS da amostra foi expresso como µg de malondialdeído por g da amostra.

Análise estatística dos dados

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o *Statistical Analyses System* (SAS, 2000). Os dados obtidos para compostos fenólicos, atividade antioxidante e estabilidade lipídica dos ovos frescos foram analisados pelo procedimento ANOVA do SAS

segundo um modelo inteiramente casualizado, sendo as médias comparadas pelo teste SNK a 5% de probabilidade.

Para determinar o melhor nível de inclusão do extrato, os dados obtidos com as rações que continham os diferentes níveis de extrato (T3 até T7) foram submetidos à análise de regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme os resultados (Tabela 7) não houve diferença significativa entre os tratamentos para a quantidade de compostos fenólicos e peroxidação lipídica nas gemas dos ovos das poedeiras. Entretanto, observou-se diferença significativa entre os tratamentos para capacidade e atividade antioxidante *in vitro* das gemas avaliadas pelos métodos DPPH e ABTS, respectivamente.

Tabela 7. Compostos fenólicos, capacidade e atividade antioxidante e peroxidação na gema dos ovos de poedeiras alimentadas com extrato etanólico do caroço da manga

Rações	Variáveis			
	Compostos fenólicos ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH (%)	ABTS (%)	TBARS (nmol/mL)
Controle ¹	24,11	11,76a	3,20d	0,201
BHT ² , 200ppm	25,73	11,11a	4,81c	0,191
EECAR ³ , 200ppm	25,66	8,62b	5,51bc	0,194
EECAR, 400 ppm	26,40	8,40b	6,31ab	0,192
EECAR, 600 ppm	25,16	6,89c	7,24a	0,191
EECAR, 800 ppm	24,54	4,59d	6,44ab	0,189
EECAR, 1000 ppm	24,85	7,48bc	2,66d	0,192
Médias	25,21	8,41	5,17	0,193
Efeitos - ANOVA ⁴		<i>p-valor</i>		
Nível	0,2375	<.0001	<.0001	0,4310
Análise de Regressão		<i>p-valor</i>		
Linear	0,8163	0,0007	<.0001	0,5062
Quadrática	0,9192	0,0047	<.0001	0,4555
CV(%) ⁵	7,47	12,78	15,66	3,97

¹Controle – ração sem antioxidante; ²BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³EECAR – extrato etanólico do caroço da manga; ⁴ANOVA- análise de variância; ⁵CV –coeficiente de variação; Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, pelo teste SNK, a 5% de probabilidade.

Pelo método DPPH (IC50), quanto menor a quantidade de um antioxidante para reduzir a 50% a quantidade inicial do DPPH, maior a sua capacidade antioxidante. Dessa

forma, a dose de 0,08% (800ppm) de extrato do caroço da manga proporcionou uma maior capacidade antioxidante da gema em relação aos demais tratamentos. Por sua vez, a adição do extrato em todas as doses resultou em maior capacidade antioxidante da gema em relação aos resultados determinados para o grupo controle e uso do BHT, que não diferiram entre si.

Na análise de regressão para determinar a melhor dose do extrato, observou-se efeito quadrático ($Y = 11,74 - 146,81X + 969,64X^2$; $R^2 = 0,57$), indicando redução no percentual de gema para obter a inibição do DPPH com adição do extrato na ração atingindo o mínimo valor com a dose estimada em 0,075% (750ppm) e aumento em doses superiores a esta.

Conforme a atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS, a maior atividade antioxidante foi obtida com o nível de 0,06% (600ppm) de extrato do caroço da manga, embora não tenha diferido dos resultados obtidos com os níveis de 0,04% (400ppm) e 0,08% (800ppm). Esses níveis, por sua vez, resultaram em maior atividade antioxidante da gema em relação aos resultados determinados para o grupo controle e uso do BHT. A atividade antioxidante das gemas dos ovos das aves alimentadas com BHT e o nível de 0,02% (200ppm) não diferiram entre si e foi significativamente maior que a obtida com a ração controle.

Na análise de regressão para determinar a melhor dose do extrato, observou-se efeito quadrático ($Y = 1,858 + 205,51X - 1944,6X^2$; $R^2 = 0,92$), indicando aumento na capacidade antioxidante com adição do extrato na ração, atingindo o máximo valor com a dose estimada em 0,053% (530ppm) e redução em doses superiores a esta.

Conforme demonstrado na literatura e nos dados da avaliação dos extratos obtidos do caroço da manga na preparação do material a ser utilizado nessa pesquisa, a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos da manga está relacionada à concentração de compostos fenólicos e flavonoides.

De acordo com Schieber *et al.* (2003), entre os compostos polifenólicos já identificados na manga estão: a mangiferina, ácido gálico (ácidos m-digálico e m-trigálico), galotaninos, quercetina, isoquercetina, ácido elágico, e β -glucogálico e em relação aos flavonoides encontrados, podemos citar: catequina, epicatequina, quercetina, isoquercetina (quercetina-3-glucosídeo), fisetina, e a astragalina (kempferol-3-glucosídeo) (HARBORNE, 1994). Sendo a fração polifenólica do extrato da manga rica principalmente em mangiferina, catequina e epicatequina (SCARTEZZINI; SPERONI, 2000), que podem ter efeitos benéficos sobre a saúde humana, devido ao sequestro de radicais livres e atividades antioxidantes (AUGUSTYNIAK *et al.*, 2005). As catequinas também podem ter efeito protetor contra a

insuficiência cardíaca congestiva (ISHIKAWA *et al.*, 1997), câncer (YAMANAKA *et al.*, 1997), insuficiência renal aguda (CHANDER *et al.*, 2003), além de reduzir a incidência de isquemia miocárdica e servir de apoio ao antienvhecimento.

O aumento da concentração do extrato do caroço da manga pode proporcionar uma maior ingestão desses compostos pelas aves, aumentando a sua presença nos ovos, contribuindo para ampliar a capacidade antioxidante e, assim, reduzir a peroxidação lipídica. Embora a adição do extrato não tenha influenciado significativamente a concentração de compostos fenólicos e a peroxidação lipídica da gema medida pelo valor de TBARS na gema, foi possível comprovar a atividade antioxidante *in vitro* das gemas, sendo o nível ótimo de adição do extrato na ração estimado em 0,075% (750ppm) pelo método DPPH e 0,053% (530ppm) para o método ABTS. Também, foi possível observar com a pesquisa, o evidente efeito pró-oxidante de níveis superiores a estes, visto que a capacidade antioxidante diminuiu.

Os resultados obtidos para peroxidação dos lipídeos da gema dos ovos diferem em parte dos relatados por Freitas *et al.* (2013). Segundo os pesquisadores, a adição de BHT e do extrato etanólico do caroço da manga (200 ou 400ppm) reduziu a oxidação lipídica dos ovos, promovendo menores valores de TBARS em relação aos valores determinados para as gemas dos ovos das aves alimentadas sem antioxidantes na ração.

Os valores de concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em ovos frescos podem ser decorrentes da ingestão dessas substâncias com atividade antioxidante presentes na ração e da posterior transferência para a gema ou, ainda, resultante da produção endógena das poedeiras. Dessa forma, a adição de antioxidantes à ração reduz os valores de TBARS nos ovos recém postos (Radwan *et al.*, 2008), sendo essa uma das respostas frequentemente relatadas na literatura (Radwan *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2011), no qual a adição de antioxidantes naturais beneficia a qualidade dos ovos, principalmente, na proteção contra a oxidação dos lipídeos da gema.

Porém, como já relatado, os resultados obtidos para os ovos frescos diferem dos efeitos determinados por Freitas *et al.* (2013), que constataram o benefício do extrato do caroço da manga em prevenir a oxidação lipídica dos ovos frescos. Entretanto, é importante destacar que, na presente pesquisa, a concentração de TBARS nas gemas determinadas para todos os tratamentos, inclusive para as aves que não receberam antioxidante na ração é muito inferior aos determinados por Freitas *et al.* (2013). Certamente as boas condições experimentais podem ter contribuído para a ausência de uma resposta significativa ao uso do antioxidante BHT e dos extratos do caroço da manga sobre essa variável uma vez que os resultados da capacidade antioxidante das gemas foi comprovada *in vitro*.

CONCLUSÃO

A utilização do extrato etanólico do caroço da manga melhorou a capacidade e a atividade antioxidante da gema dos ovos frescos, considerando-se os níveis ótimos de 750ppm e 530ppm para os métodos de DPPH e ABTS, respectivamente. No entanto, ficou evidente efeito pró-oxidante de níveis superiores a este, visto que a capacidade antioxidante diminuiu.

5 QUALIDADE DOS OVOS FRESCOS E ARMAZENADOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais, sobre as características de qualidade interna e externa dos ovos, a estabilidade dos lipídeos da gema e os indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos submetidos a diferentes condições de temperatura e tempo de armazenamento. Foram utilizadas 448 poedeiras comerciais Dekalb White, com 25 semanas de idade. Distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e oito repetições de oito aves cada. Os tratamentos consistiram em sete rações formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas: T1 – ração sem adição de antioxidante; T2 – ração com adição de 200ppm do antioxidante sintético (BHT); T3 – ração com 200ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T4 – ração com 400ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T5 – ração com 600ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T6 – ração com 800ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T7 – ração com 1000ppm de extrato etanólico do caroço da manga. A qualidade dos ovos submetidos a diferentes condições de armazenamento foi avaliada no décimo período experimental. Dos ovos produzidos durante três dias, foram selecionados oito ovos por repetição e submetidos aos períodos de armazenamento de 0 e 28 dias e às condições de armazenamento, em temperatura ambiente e refrigerado a 4°C. Não houve efeito da adição do extrato sobre as características e a qualidade dos ovos frescos de poedeiras. No entanto, observou-se melhores resultados de formação e estabilidade da espuma para ovos armazenados sob refrigeração das aves alimentadas com as rações contendo 400, 800 e 1000ppm do extrato etanólico do caroço da manga.

Palavras-chave: Antioxidante natural. Armazenamento. Estabilidade lipídica. Formação de espuma. *Mangifera indica*. Mangiferina.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effects of the ethanolic extract of mango seed inclusion in laying hens' diets on internal and external quality characteristics of egg, lipidic stability of

egg yolk and the indicators of formation and stability of the egg foam subjected to different conditions and storage time. A total of 448 Dekalb White laying hens, 25 weeks old, were distributed in a completely randomized design with seven treatments and eight replicates of eight birds each. The treatments consisted of seven rations formulated to be isoenergetic and isonutritives: T1 - ration without addition of antioxidant; T2 - feed with addition of 200ppm of the synthetic antioxidant (BHT); T3 - ration with 200ppm of ethanolic extract of mango seed; T4 - ration with 400ppm of ethanolic extract of mango seed; T5 - ration with 600ppm of ethanolic extract of mango seed; T6 - ration with 800ppm of ethanolic extract of mango seed; T7 - ration with 1000ppm of ethanolic extract of mango seed. The quality of the eggs submitted to different storage conditions was evaluated in the tenth experimental period. Eight eggs were selected per replicate and subjected to storage periods of 0 and 28 days and storage conditions, at room temperature and refrigerated at 4°C. There is no effect of antioxidant inclusion on characteristics and quality of the fresh eggs. However, better foam formation and stability results were observed for eggs stored under refrigeration from birds fed diets containing 400, 800 and 1000ppm of of ethanolic extract of mango seed.

Key words:Foam formation.Lipid stability.*Mangifera indica*.Mangiferin.Natural antioxidante.Storage.

INTRODUÇÃO

O aumento do consumo de ovos e a utilização de suas vantagens nutricionais pela população dependem da qualidade do produto oferecido ao consumidor, determinada por um conjunto de características que podem influenciar o seu grau de aceitabilidade no mercado. Como todos os produtos naturais de origem animal, o ovo também é perecível, e começa a perder sua qualidade interna momento após a postura, caso não sejam tomadas medidas adequadas para sua conservação.Sendo assim, a perda de qualidade é um fenômeno inevitável que acontece de forma contínua ao longo do tempo e pode ser agravado por diversos fatores (BARBOSA *et al.*, 2008).

As condições de armazenamento, como o tempo, a temperatura e a umidade, têm importância fundamental na manifestação das características de qualidade dos ovos. De acordo com Xavier *et al.* (2008), no Brasil, por não ser obrigatória a refrigeração, os ovos comerciais são acondicionados desde o momento da postura até a distribuição final, em temperaturas ambientes, sendo, em alguns casos, refrigerados apenas nas casas dos

consumidores. Dessa forma, o armazenamento inadequado destes produtos pode comprometer suas características qualitativas.

Dentro do ponto de vista comercial, a refrigeração preserva a qualidade interna dos ovos (CARVALHO *et al.*, 2003), na qual seria bastante favorecida, se o ovo saísse da granja diretamente para a geladeira onde seria mantido em temperatura na faixa de 0°C a 4°C, garantindo ao consumidor um produto saudável, nutritivo e saboroso, podendo ser consumido com toda segurança.

Para quantificar a qualidade interna e externa dos ovos, geralmente são avaliadas variáveis como: densidade específica, unidades Haugh, porcentagens de gema, albúmen e casca, assim como espessura da casca. Para ovos armazenados, também são avaliados parâmetros como perda de peso e pH do albúmen. Entretanto as variáveis ligadas à formação e estabilidade da espuma e à mensuração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ainda são pouco estudadas em experimentos que avaliam a qualidade dos ovos de poedeiras.

Nesse contexto, apesar dos processos oxidativos em ovos, durante a estocagem, não representarem grandes problemas, o aumento da produção de ovos enriquecidos com ácidos graxos poli-insaturados pode elevar a suscetibilidade destes produtos à peroxidação (HAYAT *et al.*, 2010). Dessa forma, torna-se importante a realização de pesquisas que visem avaliar a utilização de antioxidantes sintéticos e naturais na alimentação de poedeiras com a finalidade de controlar os processos de deterioração sobre os constituintes dos ovos, reduzindo suas perdas qualitativas.

A eficiência dos antioxidantes sintéticos tem tornado a utilização destes aditivos bastante comum em rações para poedeiras. Porém, esses antioxidantes estão sendo relacionados a uma possível ação carcinogênica, que tem levado os consumidores a rejeitar produtos que os contenham, aumentando o interesse dos pesquisadores em buscar antioxidantes naturais que possam ser utilizados como substitutos aos antioxidantes sintéticos.

Diversas pesquisas vêm sendo realizadas com a finalidade de avaliar a influência de fontes naturais ricas em compostos com atividade antioxidante sobre a qualidade dos ovos, no qual tem sido relatado que a manga (*Mangifera indica L.*) pode apresentar uma certa atividade antioxidante, com potencial efeito na prevenção de danos oxidativos aos ovos durante o armazenamento e conseqüentemente sobre a integridade dos constituintes internos dos ovos.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais, sobre as características de qualidade interna e externa dos ovos, incluindo a estabilidade dos lipídeos da gema e os indicadores de

formação e estabilidade da espuma dos ovos submetidos à diferentes condições de temperatura e tempo de armazenamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição do resíduo e preparação do extrato

O resíduo da manga, constituído de caroços, foi obtido a partir da extração da polpa e adquirido na forma *in natura* em uma empresa de beneficiamento da fruta. Foi desidratado, em processo de pré-secagem, onde foi exposto ao sol sobre uma tela plástica, durante um período de 48 horas, posteriormente foi realizada a secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por aproximadamente 72 horas. Durante todo o período de secagem, o material foi revolvido duas vezes ao dia para facilitar a desidratação e evitar o surgimento de fungos. Depois de seco o material foi triturado.

A preparação dos extratos naturais do caroço da manga foi realizada no Laboratório de Extração de Produtos Naturais (LAEX), localizado nas instalações do Setor de Avicultura, do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo método de extração a frio utilizando os solventes orgânicos: hexano e etanol.

Inicialmente, o resíduo triturado foi colocado em recipientes de vidro onde permaneceu submerso em hexano por um período de sete dias a temperatura ambiente. Em seguida, o hexano foi removido e submetido à evaporação em evaporador rotativo a 50°C, rotação de 60rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente e obtenção do extrato hexânico. O solvente recuperado foi utilizado para re-extração por mais duas vezes com as mesmas condições da extração inicial. Os extratos hexânicos obtidos nas três extrações foram descartados e os resíduos foram utilizados para extração etanólica nas mesmas condições descritas para a extração hexânica. O extrato etanólico obtido foi acondicionado em recipiente de vidro e identificado para posterior utilização.

Determinação do potencial antioxidante, fenólicos totais e atividade antioxidante total do extrato etanólico do caroço da manga

Foram retiradas alíquotas do extrato para avaliação do potencial antioxidante, atividade antioxidante total e determinação de compostos fenólicos (Tabela 8), onde o butilato

de hidroxitolueno (BHT) foi utilizado como padrão. O potencial antioxidante dos extratos foi avaliado pela capacidade de sequestro do radical DPPH, de acordo com o procedimento descrito por Brand-Willians *et al.* (1995), sendo os resultados expressos em mg/L, 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 (RUFINO *et al.*, 2007). A análise dos compostos fenólicos foi realizada pelo método Folin-Ciocalteau, expresso em mg de equivalente de ácido gálico - EqAG – por g de extrato (FOLIN; CIOCALTEAU, 1927; MUELLER-HARVEY, 2001).

Tabela 8. Potencial antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico do caroço da manga

Antioxidantes	DPPH ¹ IC50 (mg/L)	ABTS ² (μM TEAC/g)	Fenólicos Totais ³ (mg EqAG/g)
BHT ⁴	289,17	350,83	-
EECAR ⁵	175,66	518,68	95,5

¹ Radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil; ² Radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); ³Compostos fenólicos; ⁴ Butil metil fenol ou hidroxitolueno; ⁵ Extrato etanólico do caroço da manga.

Experimento com aves

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal-CEPA, protocolo 22/2013. Realizado no Setor de Avicultura/DZ/CCA/UFC em um galpão convencional para criação de poedeiras, em gaiolas de arame galvanizado (25 x 40 x 45 cm) com capacidade para 2 aves por gaiola.

Foram adquiridas e alojadas 600 frangas de postura da linhagem comercial Dekalb White. Essas aves foram criadas conforme as recomendações de manejo para a linhagem até atingirem a idade para o início do experimento.

Para a condução do experimento, foram utilizadas 448 poedeiras com 25 semanas de idade. Essas aves foram selecionadas entre as 600 recebidas, com base no peso e produção de ovos e distribuídas uniformemente nas gaiolas, de modo que todas as repetições fossem constituídas por aves com pesos e produção de ovos similares, 1.519g e 98,88%, respectivamente, conforme recomendações de Sakomura e Rostagno (2007).

Delineamento, tratamentos e rações experimentais

As aves foram distribuídas ao acaso, em sete rações experimentais e oito repetições de oito aves cada. As rações foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas (Tabela 9), sendo: R1 – ração sem adição de antioxidante (controle); R2 – ração com adição de 200ppm do antioxidante sintético (BHT); R3 – ração com 200ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R4 – ração com 400ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R5 – ração com 600ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R6 – ração com 800ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R7 – ração com 1000ppm de extrato etanólico do caroço da manga.

Tabela 9. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais com extrato etanólico do caroço da manga para poedeiras comerciais

Ingredientes	Tratamentos						
	Controle ¹	BHT ² 200 (ppm)	EECAR ³ (ppm)				
			200	400	600	800	1000
Milho	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76
Farelo de soja (45%)	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Óleo de soja	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55
Fosfato bicálcico	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78
Calcário calcítico	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07
Sal comum	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
DL – metionina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Suplemento min./vit ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
EECAR ³	0,00	0,00	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
BHT ²	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Inerte	0,10	0,08	0,08	0,06	0,04	0,02	0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional calculado							
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850
Proteína bruta (%)	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Matéria seca (%)	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61
FDA (%)	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27
FDN (%)	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66
Cálcio (%)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Fósforo disponível (%)	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Sódio (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Lisina total (%)	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
Metionina + cistina total (%)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Metionina total (%)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Treonina total (%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Triptofano total (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22

¹Controle – Ração sem antioxidante; ²BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³EECAR – Extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ Níveis de garantia por Kg do produto: vitamina A (min) 8.000.000 UI,

vitamina B1(min) 1.000mg, vitamina B12 (min) 6.000mcg, vitamina B2 (min) 3.000mg, vitamina B6 (min) 1.000 mg, vitamina D3 (min) 2.198.214 UI, vitamina E (min) 8.000 UI, vitamina K3 (min) 2.000mg, biotina (min) 20 mg, niacina (min) 20g, ácido fólico (min) 200mg, ácido pantotênico (min) 9.280 mg, cobalto (min) 100 mg, cobre (min) 6.000 mg, ferro (min) 50g, iodo (min) 1.000 mg, manganês (min) 50g, selênio (min) 200mg, zinco (min) 50 g, Bacillus subtilis 150x10e9 UFC.

As rações experimentais foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo manual da linhagem e foram considerados os valores nutricionais dos ingredientes apresentados por Rostagno *et al.* (2011).

O período experimental foi de 294 dias divididos em 14 períodos com duração de 21 dias cada. Durante todo o período experimental, as rações e água foram oferecidas à vontade e as aves foram submetidas a 16 horas de luz (natural e artificial).

O monitoramento das condições ambientais foi realizado por meio de termohigrômetro digital, cujas temperaturas e umidade relativa do ar foram registradas diariamente no início da manhã (08:00) e no final da tarde (16:00), sendo as médias de temperatura ambiente máxima e mínima e umidade relativa do ar no galpão, durante o período experimental de 31,46 °C; 26,54 °C e 73,90%, respectivamente.

Avaliação da qualidade dos ovos frescos e armazenados

A qualidade dos ovos submetidos a diferentes condições de armazenamento foi avaliada no décimo período experimental. Dos ovos produzidos durante três dias, foram selecionados oito ovos por repetição, com base na ausência de rachaduras, manchas ou sujeiras na casca, para serem submetidos aos períodos de armazenamento de 0 e 28 dias e às condições de armazenamento, em temperatura ambiente e refrigerado a 4°C. Após a seleção e identificação, os ovos foram acondicionados em bandejas de papelão e armazenados. A temperatura de armazenamento foi monitorada diariamente com o uso de um termômetro digital.

Para viabilizar as metodologias de análises, dos oito ovos armazenados por repetição, dois foram utilizados para avaliação da qualidade interna e externa, dois para avaliação pH do albúmen e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma e outros dois para determinação da oxidação lipídica da gema (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbiturico - TBARS).

A avaliação da qualidade dos ovos submetidos a diferentes condições de armazenamento foi realizada de acordo com a data de estocagem, adotando-se os mesmos procedimentos e sequência de determinações descritas para as avaliações durante todo o período experimental.

Para a avaliação da qualidade interna e externa, os ovos frescos e armazenados de cada parcela foram levados para o Laboratório de Avaliação da Qualidade de Ovos, localizado no Setor de Avicultura/DZ/CCA/UFC, para realização das medidas para o cálculo das variáveis de qualidade dos ovos: perda de peso dos ovos (%), densidade específica (g/cm³), qualidade do albúmen (unidade Haugh) e porcentagem de gema, casca e albúmen (%).

Para o cálculo da perda de peso dos ovos, todos os ovos de cada parcela foram pesados em balança semianalítica, com sensibilidade de 0,01g, no primeiro dia e armazenados. Ao final do período experimental, estes foram novamente pesados e pela diferença entre o peso no início e no final do tempo de armazenagem foi mensurada a perda de peso em gramas. Este valor foi dividido pelo peso do ovo no início do armazenamento e multiplicado por cem, gerando os dados de perda de peso em porcentagem (BARBOSA *et al.*, 2008).

Determinou-se a densidade 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, com sensibilidade de 0,01g. Os dados foram anotados para o cálculo da densidade específica em software de planilhas eletrônicas.

A avaliação da qualidade do albúmen foi realizada com a determinação da unidade Haugh. Para isso, após a determinação da densidade específica, os ovos foram quebrados sobre uma superfície plana de vidro e com a utilização de um micrômetro de profundidade mediu-se a altura (mm) do albúmen denso. Com as medidas de peso do ovo no ar e altura do albúmen, foram calculadas as unidades Haugh: $UH = 100 \times \log (H + 7,57 - 1,7 \times P^{0,37})$, onde: UH = unidades Haugh; H = altura do albúmen em mm e P = peso do ovo em g.

Para determinar as porcentagens de cada constituinte dos ovos, as gemas foram separadas e pesadas em balança de precisão. As cascas foram separadas, lavadas e secadas em estufa com circulação de ar e temperatura de 55 ° C, por 48 horas. Depois de secas foram pesadas. As porcentagens de gema e casca foram obtidas pela relação entre o peso de cada constituinte e o peso do ovo, multiplicando-se o valor obtido por 100. O percentual de albúmen foi obtido por diferença, onde: % albúmen = 100 – (% gema + % casca).

A avaliação do pH do albúmen e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos submetidos a diferentes condições de armazenamento foi realizada segundo metodologia descrita por Bovšková e Míková (2011), com adaptações. Foram pesados aproximadamente 50ml de albúmen de cada unidade experimental e posteriormente foi medido o pH. O albúmen foi homogeneizado em batedeira (Arno SX-15, BR) por 3 minutos

em velocidade máxima, tempo suficiente para formação da espuma. A espuma formada foi pesada, medido o volume e colocada em um funil posicionado sobre um copo para medir o volume do albúmen drenado em tempo fixo de 30 minutos.

Para a avaliação da qualidade da espuma foram utilizadas as seguintes equações:

$$\text{Índice de batida: } Ib = \frac{V_e}{V_a} \times 100 (\%)$$

$$\text{Índice de durabilidade da espuma: } Id = \frac{V_e - V_d}{V_a} \times 100 (\%)$$

$$\text{Densidade específica: } De = \frac{P_{50e}}{V_{50e}} (\text{g/ml})$$

$$\text{Overrun: } Or = \frac{P_{50a} - P_{50e}}{V_{50e}} \times 100 (\%)$$

$$\text{Fase de ar: } Fa = \frac{Or}{Or + 100}$$

Onde:

Ve – Volume da espuma (ml)

Va – Volume do albúmen (ml)

Vd – Volume do albúmen drenado 30 minutos após a batida (ml)

P50e – Peso de 50ml de espuma (g)

V50e – Volume de 50ml de espuma (ml)

P50a – Peso de 50ml de albúmen (ml)

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foram determinadas pelo método de extração ácido aquosa, com adaptações (Cherian *et al.*, 2002). Em um tubo de 15mL, aproximadamente 2g da amostra foram homogeneizados (1 minuto) com 6,75mL de ácido perclórico (3,86%) e 18,75µL de BHT (4,5%). O homogeneizado foi filtrado e 0,75mL foram transferidos para tubos de ensaio, juntamente com 0,75mL de ácido 2-tiobarbitúrico (20 mM).

Os tubos foram aquecidos em banho de água quente por 30 minutos. Após o resfriamento até a temperatura ambiente, foi feita a leitura no espectrofotômetro a 545nm. Utilizou-se o branco preparado com 0,75mL de ácido perclórico e 0,75mL da solução de TBA. O número de TBARS da amostra foi expresso como µg de malondialdeído por g da amostra.

Análise estatística dos dados

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o *Statistical Analyses System* (SAS, 2000). Os dados obtidos para os ovos frescos foram analisados pelo procedimento GLM do SAS (2000), segundo um modelo inteiramente casualizado. Entretanto, os dados obtidos para os ovos armazenados por 28 dias foram analisados segundo um modelo fatorial, onde foram adicionados ao modelo, além do efeito das rações, os efeitos da condição de armazenamento (refrigerado ou ambiente).

Para determinar o melhor nível de inclusão do extrato, os dados obtidos com as rações que continham os diferentes níveis de extrato foram submetidos à análise de regressão polinomial. Também foi realizada a comparação de médias entre todos os tratamentos pelo teste SNK a 5% de probabilidade. Posteriormente, os dados obtidos em cada condição de armazenamento foram comparados aos resultados obtidos para os ovos frescos pelo teste de Dunnett 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme apresentado na Tabela 10, as características e a qualidade de ovos frescos das poedeiras não diferiram significativamente entre as rações.

Tabela 10. Característica e qualidade de ovos frescos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga

Fatores	Variáveis					
	Densidade Específica (g/cm ³)	Unidades Haugh	Albúmen (%)	Gema (%)	Casca (%)	TBARS (mg/kg)
Controle ¹	1,085	88,99	64,63	25,43	9,95	0,201
BHT ² , 200ppm	1,083	88,86	64,59	25,91	9,50	0,191
EECAR ³ , 200ppm	1,081	88,17	64,46	25,64	9,91	0,194
EECAR, 400 ppm	1,081	84,55	63,94	26,16	9,91	0,192
EECAR, 600 ppm	1,081	84,60	63,96	26,56	9,48	0,191
EECAR, 800 ppm	1,080	84,78	63,19	27,10	9,71	0,189
EECAR, 1000 ppm	1,081	86,67	64,32	25,51	10,17	0,192
Médias	1,082	86,66	64,16	26,04	9,80	0,193
ANOVA ⁴	<i>p-valor</i>					
Rações	0,5770	0,4691	0,8086	0,4300	0,4814	0,4310
Regressão	<i>p-valor</i>					
Linear	1,0000	0,6971	0,6579	0,7343	0,6805	0,5062

Quadrática	0,6880	0,1858	0,3719	0,0896	0,0946	0,4555
CV(%) ⁵	0,34	4,76	2,26	4,60	5,31	3,97

¹Controle – ração sem antioxidante; ² BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³ EECAR – extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ANOVA- análise de variância; ⁵CV –coeficiente de variação.

Para as características e a qualidade dos ovos armazenados, não houve diferença significativa entre os resultados obtidos com as diferentes rações recebidas pelas aves e também, não houve interação significativa entre os fatores ração e condição de armazenamento. Entretanto, houve diferença significativamente entre as condições de armazenamento.

Para os ovos submetidos ao armazenamento por 28 dias (Tabela 11) observou-se que independente da alimentação recebida pelas aves, o resfriamento dos ovos resultou em maior densidade específica, unidades Haugh e proporção de albúmen e em menores perdas de peso, proporções de gema e casca, e oxidação lipídica das gemas (TBARS).

Tabela 11. Característica e qualidade de ovos armazenados (durante 28 dias) de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga

Efeitos	Variáveis						
	Perda Peso (%)	Densidade Específica (g/cm ³)	Unidades Haugh	Albúme n (%)	Gema (%)	Casca (%)	TBARS (mg/kg)
Rações							
Controle ¹	3,48	1,039	45,75	58,20	28,89	9,54	0,866
BHT ² , 200ppm	3,39	1,039	42,47	59,83	30,39	9,79	0,838
EECAR ³ , 200ppm	3,59	1,038	43,79	61,25	29,19	9,57	0,866
EECAR, 400 ppm	3,41	1,038	47,48	60,83	29,27	9,91	0,852
EECAR, 600 ppm	3,54	1,034	49,64	62,12	28,71	9,17	0,733
EECAR, 800 ppm	3,48	1,037	45,16	61,11	29,21	9,68	0,830
EECAR, 1000 ppm	3,33	1,033	47,12	60,37	30,21	9,42	0,770
Armazenamento							
Ambiente	5,08a	1,020 b	16,18b	59,04b	31,19a	9,77a	1,294a
Refrigerado	1,84b	1,053 a	75,65a	62,02a	27,63b	9,38b	0,349b
ANOVA ⁴ <i>p-valor</i>							
Rações	0,2396	0,3964	0,1702	0,5785	0,2089	0,1640	0,2544
Armazenamento	<.0001	<.0001	<.0001	0,0076	<.0001	0,0112	<.0001
Rações x armazen.	0,6483	0,8393	0,8079	0,3036	0,9004	0,3388	0,0508
Regressão <i>p-valor</i>							
Linear	0,6994	0,6217	0,9002	0,6002	0,4263	0,5022	0,6994
Quadrática	0,8526	0,9359	0,8076	0,3799	0,3300	0,9579	0,8526
CV(%) ⁵	15,05	0,67	11,69	6,57	5,06	5,67	15,05

¹Controle – ração sem antioxidante; ² BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³ EECAR – extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ANOVA- análise de variância; ⁵CV –coeficiente de variação.

A piora da qualidade dos ovos durante o armazenamento e redução da perda de qualidade com a refrigeração têm sido relatadas por vários pesquisadores. Entretanto, alguns pesquisadores têm levantado a hipótese que a adição de antioxidante na ração de poedeiras pode contribuir para reduzir a deterioração dos ovos durante o armazenamento, principalmente, a oxidação lipídica (RADWAN *et al.*, 2008; ZHAO *et al.*, 2011).

Sendo assim, a oxidação lipídica da gema, que tende a ser maior quando os ovos são armazenados, poderia ser reduzida pela presença dos antioxidantes no ovo. Esse benefício ocorreria em maior proporção nos ovos armazenados sem refrigeração em relação a dos ovos refrigerados. Porém, como já relatado para os ovos frescos, os resultados obtidos na presente pesquisa diferem dos efeitos verificados por Freitas *et al.* (2013), que constataram o benefício do extrato do caroço da manga em prevenir a oxidação lipídica dos ovos armazenados ao reduzir os valores de TBARS ao final do período de armazenamento em ovos refrigerados a 4°C.

Na comparação entre os resultados obtidos nas diferentes condições de armazenamento em relação aos resultados obtidos com os ovos frescos (Tabela 12), observaram-se redução na densidade específica, unidades Haugh e proporção de albúmen e aumento na proporção de gema e valores de TBARS nos armazenados à temperatura ambiente. Assim como redução na densidade específica e unidades Haugh e aumento nos valores de TBARS nos ovos refrigerados.

As alterações na proporção dos constituintes dos ovos e na qualidade dos ovos em função do tempo de armazenamento e das condições de armazenamento estão de acordo com os relatos da literatura (AKTER *et al.*, 2014).

Tabela 12. Característica e qualidade dos ovos frescos e armazenados de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga

Variáveis	Rações	Tipos de ovos		
		Frescos	Armazenados	
			Ambiente	Refrigerado
Densidade específica (g/cm ³)	Controle ¹	1,085	1,023*	1,056*
	BHT ² , 200ppm	1,083	1,025*	1,054*
	EECAR ³ , 200ppm	1,081	1,018*	1,057*
	EECAR, 400 ppm	1,081	1,020*	1,056*
	EECAR, 600 ppm	1,081	1,018*	1,050*
	EECAR, 800 ppm	1,080	1,022*	1,053*
	EECAR, 1000 ppm	1,081	1,017*	1,048*
Unidades Haugh	Controle ¹	88,99	16,40*	75,09*
	BHT ² , 200ppm	88,86	11,11*	73,84*
	EECAR ³ , 200ppm	88,17	12,83*	74,76*
	EECAR, 400 ppm	84,55	17,29*	77,66*
	EECAR, 600 ppm	84,60	22,36*	76,91*
	EECAR, 800 ppm	84,78	15,81*	74,52*
	EECAR, 1000 ppm	86,67	17,49*	76,75*
Albúmen (%)	Controle ¹	64,63	60,09*	63,81
	BHT ² , 200ppm	64,59	56,96*	62,70
	EECAR ³ , 200ppm	64,46	59,92*	62,58
	EECAR, 400 ppm	63,94	58,40*	63,26
	EECAR, 600 ppm	63,96	60,32	63,93
	EECAR, 800 ppm	63,19	59,18*	63,04
	EECAR, 1000 ppm	64,32	58,41*	62,34
Gema (%)	Controle ¹	25,43	30,44*	27,34
	BHT ² , 200ppm	25,91	32,82*	27,96
	EECAR ³ , 200ppm	25,64	30,81*	27,56
	EECAR, 400 ppm	26,16	31,17*	27,37
	EECAR, 600 ppm	26,56	30,41*	27,01
	EECAR, 800 ppm	27,10	30,71*	27,70
	EECAR, 1000 ppm	25,51	31,96*	27,46
Casca (%)	Controle ¹	9,95	9,47	9,61
	BHT ² , 200ppm	9,50	10,23	9,35
	EECAR ³ , 200ppm	9,91	9,27	9,86
	EECAR, 400 ppm	9,91	10,14	9,38
	EECAR, 600 ppm	9,48	9,27	9,06
	EECAR, 800 ppm	9,71	10,11	9,26
	EECAR, 1000 ppm	10,17	9,63	9,21
TBARS (mg/kg)	Controle ¹	0,201	1,382*	0,347*
	BHT ² , 200ppm	0,191	1,347*	0,328*

EECAR ³ , 200ppm	0,194	1,413*	0,319*
EECAR, 400 ppm	0,192	1,359*	0,344*
EECAR, 600 ppm	0,191	1,117*	0,349*
EECAR, 800 ppm	0,189	1,291*	0,369*
EECAR, 1000 ppm	0,192	1,151*	0,389*

¹Controle – ração sem antioxidante; ² BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³ EECAR – extrato etanólico do caroço da manga; * Significativamente diferente em relação aos valores determinados para os ovos frescos ($p < 0,05$).

Os valores de pH e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos frescos (Tabela 13) não diferiram significativamente entre as rações.

Tabela 13. Valores de pH e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos frescos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço de manga

Fatores	Variáveis					
	pH	Índice de batida (%)	Índice de durabilidade (%)	Densidade (g/ml)	Overrun (%)	Fase de ar
Controle ¹	8,41	355,00	331,25	0,285	22,24	0,180
BHT ² , 200ppm	8,56	365,00	339,00	0,275	22,65	0,183
EECAR ³ , 200ppm	8,62	395,00	376,25	0,258	24,90	0,198
EECAR, 400 ppm	8,43	390,00	372,25	0,255	24,71	0,195
EECAR, 600 ppm	8,57	385,00	364,50	0,263	24,37	0,195
EECAR, 800 ppm	8,54	370,00	349,75	0,270	23,42	0,190
EECAR, 1000 ppm	8,65	365,00	344,50	0,275	22,91	0,183
Médias	8,54	375,00	353,93	0,269	23,60	0,189
ANOVA ⁴	<i>p-valor</i>					
Rações	0,2875	0,5681	0,4319	0,6043	0,5899	0,6186
Regressão	<i>p-valor</i>					
Linear	0,4325	0,0762	0,0546	0,1382	0,0943	0,1052
Quadrática	0,0940	0,8490	0,8541	0,7058	0,7312	0,5518
CV(%) ⁵	1,84	8,84	9,60	9,17	10,15	8,82

¹Controle – ração sem antioxidante; ² BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³ EECAR – extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ANOVA- análise de variância; ⁵CV – coeficiente de variação.

Para os valores de pH e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos armazenados (Tabela 14) não houve diferença significativamente entre os resultados obtidos com as diferentes rações recebidas pelas aves e, também, não houve interação significativa entre os fatores ração e condição de armazenamento. Entretanto, houve diferença significativamente entre as condições de armazenamento.

Conforme os resultados, os ovos submetidos ao resfriamento apresentaram menor pH, índice de batida, durabilidade, *overrun* e fase de ar e maior densidade em relação aos ovos armazenados em temperatura ambiente por 28 dias, independente da alimentação recebida pelas galinhas.

Tabela 14. Valores de pH e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos armazenados (28 dias) de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga

Fatores	Variáveis					
	pH	Índice de batida (%)	Índice de durabilidade da espuma (%)	Densidade (g/ml)	Overrun (%)	Fase de ar
Rações						
Controle ¹	9,38	437,50	393,38	0,229	27,55	0,216
BHT ² , 200ppm	9,39	447,50	404,00	0,226	27,89	0,218
EECAR ³ , 200ppm	9,38	452,50	408,63	0,226	27,90	0,218
EECAR, 400 ppm	9,40	472,50	434,75	0,214	29,22	0,225
EECAR, 600 ppm	9,38	460,00	418,63	0,220	28,54	0,220
EECAR, 800 ppm	9,39	475,00	435,50	0,213	29,21	0,225
EECAR, 1000 ppm	9,38	480,00	440,38	0,211	29,43	0,226
Armazenamento						
Ambiente	9,55a	491,43a	448,82a	0,204b	30,01a	0,230a
Refrigerado	9,22b	430,00b	389,82b	0,236a	27,06b	0,212b
ANOVA ⁴ <i>p</i> -valor						
Rações	0,9957	0,0893	0,0545	0,1214	0,0827	0,1753
Armazenamento	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Rações x armazen.	0,8750	0,1324	0,1438	0,1519	0,1067	0,0525
Regressão <i>p</i> -valor						
Linear	0,9594	0,2775	0,2339	0,2340	0,2246	0,2739
Quadrática	0,9492	0,9683	0,8822	0,7790	0,7786	0,8955
CV(%) ⁵	0,55	6,88	8,10	7,06	5,33	4,30

¹Controle – ração sem antioxidante; ² BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³ EECAR – extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ANOVA- análise de variância; ⁵CV –coeficiente de variação.

Na comparação entre os resultados de pH e indicadores de formação e estabilidade da espuma obtidos nas diferentes condições de armazenamento em relação aos resultados obtidos para os ovos frescos (Tabela 15), foram observados aumento de pH, índice de batida e durabilidade da espuma, overrun e fase de ar e menor densidade nos ovos sem refrigeração. Para os ovos refrigerados, houve aumento de pH; enquanto, apenas para as rações contendo 400, 800 e 1000ppm houve diferença significativa, obtendo-se maior índice de batida, durabilidade, overrun e fase de ar e menor densidade para espuma dos ovos das aves alimentadas com essas rações.

Entre os fatores que influenciam a formação e estabilidade da espuma da clara dos ovos são citados: idade da poedeira, tempo e condições de armazenamento dos ovos, temperatura, pH, matéria seca, presença de gema ou lipídios na clara e velocidade e tempo de batidas da clara, dentre outros (LOMAKINA; MÍKOVÁ, 2006).

Tabela 15. Valores de pH e dos indicadores de formação e estabilidade da espuma dos ovos frescos e armazenados de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga

Variáveis	Rações	Tipos de ovos		
		Frescos	Temperatura	
			Ambiente	Refrigerado
pH	Controle ¹	8,41	9,57*	9,20*
	BHT ² , 200ppm	8,56	9,54*	9,24*
	EECAR ³ , 200ppm	8,62	9,55*	9,22*
	EECAR, 400 ppm	8,43	9,57*	9,23*
	EECAR, 600 ppm	8,57	9,55*	9,21*
	EECAR, 800 ppm	8,54	9,55*	9,23*
	EECAR, 1000 ppm	8,73	9,55*	9,22*
Índice de batida (%)	Controle ¹	355,00	465,00*	410,00
	BHT ² , 200ppm	365,00	475,00*	420,00
	EECAR ³ , 200ppm	395,00	510,00*	395,00
	EECAR, 400 ppm	390,00	495,00*	450,00*
	EECAR, 600 ppm	385,00	500,00*	420,00
	EECAR, 800 ppm	370,00	505,00*	445,00*
	EECAR, 1000 ppm	365,00	490,00*	470,00*
Índice de durabilidade da espuma (%)	Controle ¹	331,25	420,00*	366,75
	BHT ² , 200ppm	339,00	430,50*	377,50
	EECAR ³ , 200ppm	376,25	466,50*	350,75
	EECAR, 400 ppm	372,25	454,75*	414,75*
	EECAR, 600 ppm	364,50	457,75*	379,50
	EECAR, 800 ppm	349,75	464,00*	407,00*
	EECAR, 1000 ppm	344,50	448,25*	432,50*
Densidade (g/ml)	Controle ¹	0,285	0,213*	0,245
	BHT ² , 200ppm	0,275	0,213*	0,240
	EECAR ³ , 200ppm	0,258	0,198*	0,255
	EECAR, 400 ppm	0,255	0,203*	0,225*
	EECAR, 600 ppm	0,263	0,200*	0,240
	EECAR, 800 ppm	0,270	0,198*	0,228*
	EECAR, 1000 ppm	0,275	0,205*	0,218*
Overrun (%)	Controle ¹	22,24	29,05*	26,05
	BHT ² , 200ppm	22,65	29,21*	26,58
	EECAR ³ , 200ppm	24,90	30,73*	25,07
	EECAR, 400 ppm	24,71	30,19*	28,26*
	EECAR, 600 ppm	24,37	30,41*	26,66
	EECAR, 800 ppm	23,42	30,54*	27,88*
	EECAR, 1000 ppm	22,91	29,93*	28,94*
Fase de ar	Controle ¹	0,180	0,225*	0,208
	BHT ² , 200ppm	0,183	0,225*	0,210

EECAR ³ , 200ppm	0,198	0,238*	0,198
EECAR, 400 ppm	0,195	0,233*	0,218*
EECAR, 600 ppm	0,195	0,230*	0,210
EECAR, 800 ppm	0,190	0,233*	0,218*
EECAR, 1000 ppm	0,183	0,230*	0,223*

¹Controle – ração sem antioxidante; ² BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³ EECAR – extrato etanólico do caroço da manga;* Significativamente diferente em relação aos valores determinados para os ovos frescos (p<0,05).

Segundo Stadelman e Cotterill (1994), a estabilidade da espuma da clara dos ovos é diretamente proporcional à viscosidade do meio líquido, enquanto, a densidade da espuma é inversamente proporcional à viscosidade. Dessa forma, a estabilidade é inversamente proporcional à densidade específica da espuma. Assim, Hatta *et al.* (1997), avaliaram a influência do grau de frescura do ovo sobre a estabilidade da espuma da clara e observaram uma mudança da espessura do albúmen do ovo que se tornou mais fino durante o armazenamento (12 dias de armazenamento a 25 °C) e isso causou uma diminuição na viscosidade da clara de ovo.

Quanto ao efeito do tempo, o pH aumenta com o tempo de armazenamento e, em consequência, a n-ovalbumina da clara de ovo é transformada em s-ovalbumina, que é menos hidrofóbica. Isto interfere na formação de um filme coeso sobre a interface ar-água, causando uma diminuição na estabilidade da espuma (ALLEONI; ANTUNES, 2004). Entretanto, Silversides e Budgell (2004), relataram que o armazenamento tem efeito negativo sobre a altura de albúmen e positivo sobre o pH com um efeito moderadamente positivo no volume total da clara batida. Para Hammershoj e Qvist (2001), o efeito essencial sobre a estabilidade da espuma contra a drenagem de líquido em função do tempo de armazenamento é exercida pela camada fina de albúmen.

Conforme os resultados obtidos na presente pesquisa, o tempo de armazenamento aumentou o pH do albúmen. Entretanto, melhorou os indicadores de qualidade da espuma do albúmen uma vez que os valores de durabilidade, *overrun* e fase de ar foram maiores e a densidade foi menor para os ovos armazenados sem refrigeração em relação aos ovos armazenados sob refrigeração e fresco.

Todas essas variáveis estão associadas ao volume da espuma após o seu batimento para incorporação de ar e, segundo Silversides e Budgell (2004), o volume da espuma está negativamente associado com a altura do albúmen.

Os ovos armazenados sem refrigeração apresentaram menores valores de unidade Haugh e melhores indicadores de espuma. Por sua vez, Silversides e Budgell (2004),

relataram que o tempo de armazenamento dos ovos sob refrigeração 4°C não influenciaram a qualidade da espuma da clara.

CONCLUSÃO

A utilização do extrato etanólico do caroço da manga não afeta as características e a qualidade dos ovos frescos ou armazenados por até 28 dias.

6 EFEITOS FISIOLÓGICOS DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DO CAROÇO DA MANGA NA ALIMENTAÇÃO DE POEDEIRAS COMERCIAIS

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais, sobre o hemograma, parâmetros bioquímicos, concentração de compostos fenólicos, atividade antioxidante e oxidação lipídica do sangue, atividade enzimática da glutathione peroxidase no ovário, magno, útero e fígado. Foram utilizadas 448 poedeiras comerciais Dekalb White, com 25 semanas de idade, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e oito repetições de oito aves cada. Os tratamentos consistiram em sete rações formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas: T1 – ração sem adição de antioxidante; T2 – ração com adição de 200ppm do antioxidante sintético (BHT); T3 – ração com 200ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T4 – ração com 400ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T5 – ração com 600ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T6 – ração com 800ppm de extrato etanólico do caroço da manga; T7 – ração com 1000ppm de extrato do caroço da manga. No final do período experimental, foi selecionada uma ave de cada repetição para a coleta de sangue e dos órgãos. Não houve efeito da adição dos antioxidantes nas rações sobre o hemograma, parâmetros bioquímicos, compostos fenólicos e a atividade antioxidante do sangue das poedeiras. Entretanto, houve efeito quadrático para peroxidação lipídica do sangue, indicando redução nos valores com adição do extrato na ração, atingindo o mínimo valor com a dose estimada de 690ppm e aumento em doses superiores a esta. Para atividade da glutathione peroxidase nos órgãos das poedeiras, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos.

Palavras-chave: Antioxidante natural. Enzimas. Estresse oxidativo. Mangiferina. Órgãos reprodutores. Sangue.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effects of the inclusion of ethanolic extract of mango seed on hemogram, biochemical parameters, concentration of phenolic compounds, antioxidant activity and lipid oxidation of blood, enzymatic activity of glutathione peroxidase in ovary,

magno, uterus and liver. A total of 448 Dekalb White laying hens, 25 weeks old, were distributed in a completely randomized design with seven treatments and eight replicates of eight birds each. The treatments consisted of seven rations formulated to be isoenergetic and isonutritives: T1 - ration without addition of antioxidant; T2 - feed with addition of 200ppm of the synthetic antioxidant (BHT); T3 - ration with 200ppm of ethanolic extract of mango seed; T4 - ration with 400ppm of ethanolic extract of mango seed; T5 - ration with 600ppm of ethanolic extract of mango seed; T6 - ration with 800ppm of ethanolic extract of mango seed; T7 - ration with 1000ppm of ethanolic extract of mango seed. At the end of the experimental period, a bird was selected from each replicate for collection of blood and organs. There is no effect of antioxidant addition in diets on hemogram, biochemical parameters, phenolic compounds and antioxidant activity of the blood of laying hens. However, there was a quadratic effect for lipid peroxidation of the blood, indicating a reduction in the values with addition of the extract in the ration reaching the minimum value with the estimated level of 690ppm and increase in levels higher than this. For glutathione peroxidase activity in the organs of laying hens, no significant difference was observed between treatments.

Key words:Blood.Enzymes.Mangiferin.Natural antioxidante.Oxidative stress.Reproductive organs.

INTRODUÇÃO

No atual modelo dos sistemas de criação, as aves são criadas em confinamento e são mantidas em grupos bem maiores quando comparados à situação na natureza. Dessa forma, diversos fatores adversos intrínsecos e extrínsecos, podem alterar o funcionamento normal do organismo desses animais, induzindo a formação de espécies reativas ao oxigênio (JESUS, 2007), alterando assim o sistema imune.

Essas espécies reativas ao oxigênio, como os ânions superóxidos, radicais hidroxil e peróxido de hidrogênio, estão envolvidas em uma série de processos degenerativos no organismo, por serem ou gerarem radicais livres (ARUOMA *et al.*, 1998), prejudicando a homeostase animal. Apesar do oxigênio ser considerado um composto indispensável para a produção de energia, sendo fundamental para a respiração celular, durante esse processo natural, pode-se gerar níveis superiores de espécies reativas ao oxigênio em relação às

atividades de defesa antioxidante no organismo, podendo ocasionar graves danos aos seres vivos.

Dessa forma, devido às espécies reativas ao oxigênio serem altamente capazes de captar elétrons de compostos próximos, estas podem proporcionar naturalmente reações de oxidação, que causam reações em cadeia de lesão celular. Segundo Barreiros *et al.* (2006), entre os danos mais graves causados pelo excesso de radicais livres ao organismo estão os danos ao DNA, às enzimas, às membranas celulares e ao sangue. Conforme estes pesquisadores, proteínas, fosfolipídeos, glicoproteínas e glicolipídeos das membranas são alguns dos potenciais alvos dos radicais livres.

Vários fatores podem desencadear um quadro de estresse oxidativo no organismo animal, como os fatores ambientais, nutricionais e fisiológicos. De acordo com Oishi *et al.* (2003), em estudos que relacionam parâmetros imunológicos e fatores estressores, tem se tornado evidente que estes podem ter efeitos distintos nos parâmetros imunes dependendo da natureza, intensidade e o tempo de ação do estressor.

Entretanto, o organismo animal apresenta vários mecanismos de defesa antioxidantes para evitar os danos causados pelos radicais livres. Estes agem “recolhendo” as espécies reativas ao oxigênio ou bloqueando a peroxidação, e eventualmente inibindo a peroxidação lipídica (HALIFEOGLU *et al.*, 2003). Enzimas endógenas antioxidantes, como a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, exercem um papel importante no “recolhimento” dos radicais oxidativos (SPURLOCK; SAVAGE, 1993), e são consideradas marcadores na avaliação do estresse oxidativo.

Contudo, quando os níveis de radicais livres ultrapassam a capacidade antioxidante dos tecidos e dos fluidos corporais é possível que estes danifiquem macromoléculas biológicas, levando a danos celulares e disfunções que prejudicam a produtividade (MATES *et al.*, 1999). Dessa forma, torna-se importante a realização de pesquisas no intuito de avaliar o efeito fisiológico e a resposta imune da utilização de antioxidantes sintéticos e naturais na alimentação de poedeiras.

Nesse contexto, a manga (*Mangifera indica L.*) vem sendo apontada como uma possível fonte de antioxidantes naturais, uma vez que contém diferentes componentes com essa ação, como β -caroteno, vitaminas C e E, flavanoides e compostos fenólicos.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão do extrato etanólico do caroço da manga na ração de poedeiras comerciais, sobre os efeitos fisiológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição do resíduo e preparação do extrato

O resíduo da manga, constituído de caroços, foi obtido a partir da extração da polpa e adquirido na forma *in natura* em uma empresa de beneficiamento da fruta. Foi desidratado, em processo de pré-secagem, onde foi exposto ao sol sobre uma tela plástica, durante um período de 48 horas, posteriormente foi realizada a secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por aproximadamente 72 horas. Durante todo o período de secagem, o material foi revolvido duas vezes ao dia, para facilitar a desidratação e evitar o surgimento de fungos. Depois de seco o material foi triturado.

A preparação dos extratos naturais do caroço da manga foi realizada no Laboratório de Extração de Produtos Naturais (LAEX), localizado nas instalações do Setor de Avicultura, do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo método de extração a frio utilizando os solventes orgânicos: hexano e etanol.

Inicialmente, o resíduo triturado foi colocado em recipientes de vidro onde permaneceu submerso em hexano por um período de sete dias a temperatura ambiente. Em seguida, o hexano foi removido e submetido à evaporação em evaporador rotativo a 50°C, rotação de 60rpm e pressão reduzida para recuperação do solvente e obtenção do extrato hexânico. O solvente recuperado foi utilizado para re-extração por mais duas vezes com as mesmas condições da extração inicial. Os extratos hexânicos obtidos nas três extrações foram descartados e os resíduos foram utilizados para extração etanólica nas mesmas condições descritas para a extração hexânica. O extrato etanólico obtido foi acondicionado em recipiente de vidro e identificado para posterior utilização.

Determinação do potencial antioxidante, fenólicos totais e atividade antioxidante total do extrato etanólico do caroço da manga

Foram retiradas alíquotas do extrato para avaliação do potencial antioxidante, atividade antioxidante total e determinação de compostos fenólicos (Tabela 16), onde o

butilato de hidroxitolueno (BHT) foi utilizado como padrão. O potencial antioxidante dos extratos foi avaliado pela capacidade de sequestro do radical DPPH, de acordo com o procedimento descrito por Brand-Willians *et al.*, (1995), sendo os resultados expressos em mg/L, 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 (RUFINO *et al.*, 2007). A análise dos compostos fenólicos 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 16. Potencial antioxidante, atividade antioxidante total e compostos fenólicos do extrato etanólico do caroço da manga.

Antioxidantes	DPPH ¹ IC50 (mg/L)	ABTS ² (μM TEAC/g)	Fenólicos Totais ³ (mg EqAG/g)
BHT ⁴	289,17	350,83	-
EECAR ⁵	175,66	518,68	95,5

¹ Radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil; ² Radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); ³Compostos fenólicos; ⁴ Butil metil fenol ou hidroxitolueno; ⁵ Extrato etanólico do caroço da manga.

Experimento com aves

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal-CEPA, protocolo 22/2013. Realizado no Setor de Avicultura/DZ/CCA/UFC em um galpão convencional para criação de poedeiras, em gaiolas de arame galvanizado (25 x 40 x 45 cm) com capacidade para 2 aves por gaiola.

Foram adquiridas e alojadas 600 frangas de postura da linhagem comercial Dekalb White. Essas aves foram criadas conforme as recomendações de manejo para a linhagem até atingirem a idade para o início do experimento.

Para a condução do experimento, foram utilizadas 448 poedeiras com 25 semanas de idade. Essas aves foram selecionadas entre as 600 recebidas, com base no peso e produção de ovos e distribuídas uniformemente nas gaiolas, de modo que todas as repetições fossem constituídas por aves com pesos e produção de ovos similares, 1.519g e 98,88%, respectivamente, conforme recomendações de Sakomura e Rostagno (2007).

Delineamento, tratamentos e rações experimentais

As aves foram distribuídas ao acaso, em sete rações experimentais e oito repetições de oito aves cada. As rações foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas (Tabela 17), sendo: R1 – ração sem adição de antioxidante (controle); R2 – ração com adição de 200ppm do antioxidante sintético (BHT); R3 – ração com 200ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R4 – ração com 400ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R5 – ração com 600ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R6 – ração com 800ppm de extrato etanólico do caroço da manga; R7 – ração com 1000ppm de extrato etanólico do caroço da manga.

Tabela 17. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais com extrato etanólico do caroço da manga para poedeiras comerciais

Ingredientes	Tratamentos						
	Controle ¹	BHT ² 200 (ppm)	EECAR ³ (ppm)				
			200	400	600	800	1000
Milho	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76	54,76
Farelo de soja (45%)	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Óleo de soja	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55
Fosfato bicálcico	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78	1,78
Calcário calcítico	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07	9,07
Sal comum	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
DL – metionina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Suplemento min./vit ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
EECAR ³	0,00	0,00	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
BHT ²	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Inerte	0,10	0,08	0,08	0,06	0,04	0,02	0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional calculado							
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850	2.850
Proteína bruta (%)	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Matéria seca (%)	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61	89,61
FDA (%)	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27	4,27
FDN (%)	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66	10,66
Cálcio (%)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Fósforo disponível (%)	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Sódio (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Lisina total (%)	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
Metionina + cistina total (%)	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Metionina total (%)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Treonina total (%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Triptofano total (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22

¹Controle – Ração sem antioxidante; ²BHT – Butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³EECAR – Extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ Níveis de garantia por Kg do produto: vitamina A (min) 8.000.000 UI,

vitamina B1(min) 1.000mg, vitamina B12 (min) 6.000mcg, vitamina B2 (min) 3.000mg, vitamina B6 (min) 1.000 mg, vitamina D3 (min) 2.198.214 UI, vitamina E (min) 8.000 UI, vitamina K3 (min) 2.000mg, biotina (min) 20 mg, niacina (min) 20g, ácido fólico (min) 200mg, ácido pantotênico (min) 9.280 mg, cobalto (min) 100 mg, cobre (min) 6.000 mg, ferro (min) 50g, iodo (min) 1.000 mg, manganês (min) 50g, selênio (min) 200mg, zinco (min) 50 g, Bacillus subtilis 150x10e9 UFC.

As rações experimentais foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo manual da linhagem e foram considerados os valores nutricionais dos ingredientes apresentados por Rostagno *et al.* (2011).

O período experimental foi de 294 dias divididos em 14 períodos com duração de 21 dias cada. Durante todo o período experimental, as rações e água foram oferecidas à vontade e as aves foram submetidas a 16 horas de luz (natural e artificial).

O monitoramento das condições ambientais foi realizado por meio de termohigrômetro digital, cujas temperaturas e umidade relativa do ar foram registradas diariamente no início da manhã (08:00) e no final da tarde (16:00), sendo as médias de temperatura ambiente máxima e mínima e umidade relativa do ar no galpão, durante o período experimental de 31,46 °C; 26,54 °C e 73,90%, respectivamente.

Avaliação dos efeitos fisiológicos

Para avaliar os efeitos fisiológicos do uso do extrato etanólico do caroço da manga na alimentação das aves foram realizados exames de sangue, nos quais, foram avaliados o hemograma e os parâmetros bioquímicos. Também foram avaliadas a concentração de compostos fenólicos, atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS e oxidação lipídica (TBARS) do sangue.

A influência das rações sobre a atividade de enzimas relacionadas à proteção das aves contra o estresse oxidativo foi avaliada com as determinações da atividade da enzima glutatona peroxidase no fígado, ovário, magno e útero.

Para isso foi selecionada uma ave de cada repetição, total de 48 aves, no final do período experimental (64 semanas de idade) para a coleta de sangue e dos órgãos que foram utilizados para a realização das análises.

Hemograma e bioquímica do sangue

Para a realização do hemograma, o sangue de cada ave foi coletado mediante punção da veia braquial, localizada na asa, com agulha e seringa descartável de 3mL. Depois

de coletado, o sangue foi distribuído em frascos apropriados para coleta contendo EDTA (BD Microtainer). A determinação da hemoglobina foi realizada em contador automático veterinário de células (Hemascreen 18). A determinação do volume globular foi realizada através da técnica do microhematócrito utilizando-se tubos capilares Perfecta® e centrífuga de microhematócrito. A determinação das proteínas plasmáticas totais foi realizada por refratometria através de refratômetro de mão QUIMIS® Q767. As determinações de hematimetria, leucometria global e trombocitometria foram realizadas a partir de uma única diluição que evidencia eritrócitos, leucócitos e trombócitos, utilizando-se a solução de Natt-Herrick. A técnica da leucometria específica foi realizada através de hematoscopia em aumento de 1000 x (imersão) dos esfregaços corados pelo May-Grunwald-Giemsa (MGG).

Para a realização das análises bioquímica do sangue, uma outra amostra de sangue foi colhida por punção cardíaca, colocada em tubos apropriados e deixados em temperatura ambiente para coagulação e posterior centrifugação a 3.000rpm por 15 minutos. Após a centrifugação, foi retirado o sobrenadante (soro), sendo cada amostra dividida para que cada alíquota fosse acondicionada e, posteriormente, utilizada nas respectivas determinações.

Em uma parte do soro foram dosados: ácido úrico, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicerídeos, creatinina, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Essas investigações bioquímicas foram realizadas pelo método de automação (Metrolab 2300 plus) com kits cinéticos da Weiner, conforme instrução do fabricante.

Compostos fenólicos, atividade antioxidante e peroxidação lipídica do sangue

O conteúdo dos fenólicos totais das amostras de soro foi determinado com o reagente Folin-Ciocalteu, usando o ácido gálico como padrão. Foi adaptada a metodologia descrita por Parker *et al.* (2007), onde 100µl do extrato do soro foi adicionado a 0,5ml do reagente Folin-Ciocalteu a 10% (v/v), após 3 minutos foi adicionado 0,4ml de carbonato de sódio (75g/L), e incubado a 45°C por 25 minutos.

A absorbância foi medida em espectrofotômetro (765nm). A curva padrão foi preparada a partir de ácido gálico (0 a 75mg/L) e os resultados foram expressos como equivalente de ácido gálico (µgAG/ml de soro).

A capacidade antioxidante do soro foi avaliada pelo método do DPPH e lida em espectrofotometria UV-visível (JANASZEWSKA; BARTOSZ, 2002). Uma mistura de 5ml do soro e 5ml de acetona foram agitadas durante 1 minuto e depois centrifugadas durante 5

minutos a 5500g a 4°C, para desproteinização da amostra. O sobrenadante foi retirado com uma pipeta revestida com algodão para remover pequenas partículas. Antes do ensaio, uma solução 0,1 M de DPPH em metanol (0,0039g/100ml) foi preparada e foi incubada na ausência de luz. Uma alíquota de 400µl da solução de DPPH foi adicionada a 360µl do tampão fosfato (pH 7,4) e 40µl de amostra e homogeneizados em vórtex.

A absorbância foi lida a 505nm, com 0, 5, 10, 15 e 20 minutos após a mistura. A inibição (descoloração) do radical DPPH foi calculada como a percentagem relativa de absorbância da amostra no momento da leitura e comparada com um branco (400µl de solução de DPPH mais 400µl de tampão fosfato).

O ensaio da atividade antioxidante ABTS foi realizado segundo descrito por Re *et al.* (1999), e se baseia na alteração da cor que ocorre quando o cátion radical ABTS⁺ é reduzido para ABTS (2,2 - azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). Para isso, o radical foi gerado pela reação de uma solução de 7mM de ABTS em água com 2,45mM de persulfato de potássio (1:1). A solução radical mostra valores de absorbância estável até 16 horas a partir do momento da mistura. Durante esse período, a reação deve ocorrer em local protegido da luz e à temperatura ambiente. O ensaio foi realizado com 1ml da solução de ABTS⁺ e 10µl do extrato do soro. As medições de absorbância foram feitas após 15 minutos do tempo de reação (734 nm) e os resultados expressos em % de captura.

A peroxidação lipídica no sangue foi determinada por estimativa do malondialdeído (MDA) segundo metodologia descrita por Draper e Hadley (1990), onde foram adicionados, em tubos de vidro, 250µL de soro seguido por 400µL de ácido perclórico a 35% e aquecido em banho de água quente por 1 hora (37°C). A mistura foi centrifugada (1400 g; 10 minutos) e em seguida foi retirado 600µL do sobrenadante e adicionado a 200µL de ácido tiobarbitúrico (1,2%). Essa mistura foi aquecida em banho de água quente por 30 minutos (95°C). Em seguida, a solução foi resfriada e a leitura foi realizada em espectrofotômetro (535nm). A curva padrão foi obtida usando 1,1,3,3-tetrametoxipropano e os resultados obtidos foram expressos em nmol MDA/mL de soro.

Atividade da enzima glutathione peroxidase nos órgãos

Depois da coleta das amostras de sangues, as aves foram eutanasiadas para a retirada dos órgãos. As amostras dos órgãos foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido, e armazenadas a -80°C até o momento das análises da atividade enzimática da glutathione peroxidase, enzima relacionada aos processos de oxidação lipídica no organismo.

A concentração de glutathiona (GSH) nos órgãos (ovário, magno, útero e fígado) foi avaliada utilizando o ensaio para determinação de grupos sulfidrílicos não proteicos - NP-SH (SEDLAK; LINDSAY, 1968). O tecido foi homogeneizado em solução gelada de EDTA (0,02M), para preparação do homogenato a 10%. Em seguida, uma alíquota de 0,5mL do homogenato foi adicionado a 0,4mL de água destilada e 0,1mL de ácido tricloroacético 50% para precipitação das proteínas.

Após essa etapa, o material foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos à temperatura de 4°C. Em seguida, novas alíquotas de 0,5mL do sobrenadante foram misturadas em 1mL de tampão Tris com concentração de 0,4 M, pH 8,9 e 25µL de ditiobisnitrobenzoato (DTNB) 0,01 M. A absorvância foi medida dentro de 5 minutos a 412nm contra um reagente branco (sem o homogenato). A concentração de NP-SH foi calculada através de uma curva padrão de glutathiona reduzida (GSH) e os resultados expressos em µg de NP-SH/g de tecido.

Análise estatística dos dados

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o *Statistical Analyses System* (SAS, 2000). Os dados obtidos para hemograma, parâmetros bioquímicos, concentração de compostos fenólicos, atividade antioxidante e oxidação lipídica do sangue, atividade enzimática da glutathiona peroxidase no ovário, magno, útero e fígado, foram analisados pelo procedimento ANOVA do SAS segundo um modelo inteiramente casualizado, sendo as médias comparadas pelo teste SNK a 5% de probabilidade

Para determinar o melhor nível de inclusão do extrato, os dados obtidos com as rações que continham os diferentes níveis de extrato (T3 até T7) foram submetidos à análise de regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Hemograma e bioquímica do sangue

Os valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito, concentração de hemoglobina corpuscular média, volume corpuscular médio, leucócitos totais e linfócitos (Tabela 18) não diferiram significativamente em função dos tratamentos.

Segundo Schmidt *et al.* (2007), a redução de eritrócitos e hematócritos caracteriza anemia em aves que pode decorrer, entre outros fatores, de desnutrição e intoxicação. Por sua

vez, Tessari *et al.* (2006), e Borsa *et al.* (2009), relataram que a ausência de alterações nos parâmetros de concentração de hemoglobina corpuscular média e volume corpuscular médio pode estar relacionada à boa nutrição e à falta de desafios nos locais onde são conduzidos os experimentos.

Nesse contexto, pode-se inferir que a ausência de diferença significativa entre os tratamentos nessa pesquisa indicam as boas condições de nutrição das poedeiras e ausência de desafio de campo que pudessem prejudicar os parâmetros do hemograma das aves e, conseqüentemente, trazer problemas no desempenho e qualidade dos ovos. Isso pode ter contribuído para a ausência de diferenças significativas entre o uso ou não de antioxidantes na ração.

Segundo Schimidt *et al.* (2007), a leucopenia pode ocorrer por infecções sistêmicas agudas ou estresse severo. Wang *et al.* (2009), relataram que o aumento significativo na concentração de leucócitos e linfócitos melhora as características do sangue a curto prazo, no que diz respeito à resposta imune. Nesse sentido, o uso de aditivos antioxidantes tem sido recomendado para melhorar a imunidade das aves. Entretanto, os resultados obtidos para essas variáveis na presente pesquisa evidenciam que as aves alimentadas com o antioxidante sintético BHT ou a adição do extrato do caroço da manga não foram beneficiadas, mas também não foram prejudicadas.

Tabela 18. Hemograma de poedeiras alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga

Rações	Variáveis						
	He ⁶ (10 ⁶ µl)	Hb ⁷ (g/dL)	Ht ⁸ (%)	VCM ⁹ (fL)	CHCM ¹⁰ (%)	Leucócitos (10 ⁶ /µl)	Linfócitos(%)
Controle ¹	3,28	12,90	38	115,80	33,93	6,47	46,67
BHT ² , 200ppm	2,50	12,40	31	124,00	34,00	5,60	45,00
EECAR ³ , 200ppm	3,00	12,80	34	113,30	37,60	6,30	50,00
EECAR, 400 ppm	2,70	12,95	30	112,05	33,15	5,65	52,50
EECAR, 600 ppm	2,65	12,85	31	116,70	33,50	5,80	42,50
EECAR, 800 ppm	2,80	11,00	30	107,10	36,60	5,50	50,00
EECAR, 1000 ppm	2,24	12,20	27	120,50	35,10	6,40	40,00
Médias	2,83	12,61	32,55	115,44	34,40	6,01	46,82
ANOVA ⁴	<i>p-valor</i>						
Rações	0,5192	0,9509	0,5027	0,6852	0,1359	0,1329	0,4329
Regressão	<i>p-valor</i>						
Linear	0,1570	0,2641	0,1465	0,6711	0,9955	0,3393	0,8309

Quadrática	0,8714	0,8954	1,000	0,7709	0,1986	0,3196	0,9319
CV(%) ⁵	15,67	12,84	14,89	6,10	3,02	13,29	10,22

¹Controle – ração sem antioxidante; ²BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³EECAR – extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ANOVA- análise de variância; ⁵CV –coeficiente de variação; ⁶Hem-número total de hemácias; ⁷Hb-hemoglobina; ⁸Ht-hematócrito; ⁹VCM-volume corpuscular médio; ¹⁰CHCM-concentração de hemoglobina corpuscular média.

Para os valores de ácido úrico, colesterol total, HDL, LDL, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e triglicérides (Tabela 19) não houve efeito significativo dos tratamentos.

Tabela 19. Parâmetros bioquímicos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga

Rações	Variáveis						
	Ácido úrico (mg/dL)	Colesterol Total(mg/dL)	HDL ⁶ (mg/dL)	LDL ⁷ (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	AST ⁸ (U/L)	ALT ⁹ (U/L)
Controle ¹	4,34	163,20	29,60	161,20	0,25	131,00	22,00
BHT ² , 200ppm	3,66	162,40	26,80	158,20	0,25	126,20	20,00
EECAR ³ , 200ppm	3,72	178,20	29,20	155,00	0,20	123,80	20,00
EECAR, 400 ppm	4,50	166,40	25,40	153,00	0,24	129,00	25,00
EECAR, 600 ppm	3,74	165,60	23,60	158,20	0,25	120,80	23,33
EECAR, 800 ppm	4,52	169,80	27,00	152,80	0,25	125,00	24,00
EECAR, 1000 ppm	3,54	170,40	26,40	160,00	0,27	128,20	20,00
Médias	4,00	168,00	26,86	156,91	0,24	126,29	22,05
ANOVA ⁴				<i>p</i> -valor			
Rações	0,0529	0,9650	0,6733	0,9676	0,8964	0,9618	0,9500
Regressão				<i>p</i> -valor			
Linear	0,7434	0,6708	0,4886	0,6150	0,1141	0,8389	0,9582
Quadrática	0,1040	0,3859	0,0843	0,7398	0,5584	0,7685	0,2537
CV(%) ⁵	15,47	15,17	21,14	10,19	24,63	12,61	35,13

¹Controle – ração sem antioxidante; ² BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³EECAR – extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ANOVA- análise de variância; ⁵CV –coeficiente de variação; ⁶HDL – high density lipoprotein; ⁷LDL – low density lipoprotein; ⁸AST-aspartato aminotransferase; ⁹ALT-alanina aminotransferase; ¹⁰Triglicérides.

Os constituintes bioquímicos séricos podem refletir as condições de saúde, nutrição, clima e manejo a que os animais foram submetidos (MINAFRA *et al.*, 2010), podendo ser utilizada como um indicativo ao desempenho produtivo das aves e de doenças metabólicas (ROTAVA *et al.*, 2008). Assim, como os níveis sanguíneos de ácido úrico e

creatinina das aves não foram influenciados pelos tratamentos, pode-se afirmar que não houve um comprometimento das funções renais (KONAN *et al.*, 2007).

As aminotransferases ALT e AST estão envolvidas no metabolismo de aminoácidos e gliconeogênese. Estas enzimas catalisam a transferência de um grupo amino da alanina e do aspartato, respectivamente, ao alfa- cetogluturato, originando, nesta ordem, glutamato e piruvato ou oxaloacetato. A ALT é localizada primariamente no fígado, enquanto a AST é encontrada também no coração, cérebro, e tecido muscular.

Danos nos hepatócitos promovem liberação do conteúdo de AST e ALT no espaço extracelular e aumento dos seus níveis séricos. Injúrias em tecidos extra-hepáticos, particularmente tecido muscular, também contribuem para o aumento dos níveis séricos destas enzimas.

Dessa forma, a avaliação isolada dos níveis séricos destas enzimas como indicadores de injúria tecidual podem apresentar resultados falso-positivos (OZER *et al.*, 2008). Entretanto, uma vez que os resultados entre os tratamentos não diferiram para essas enzimas, pode-se inferir que o uso do extrato etanólico do caroço da manga nas diferentes dosagens não promoveram efeitos tóxicos sobre o fígado das aves.

Também, vale ressaltar que não houve benefícios dos extratos em relação às aves que não receberam antioxidante na ração talvez porque as condições experimentais não foram adversas a ponto de haver mudanças na atividade hepáticas das galinhas, pois o resultado para o grupo controle foi semelhante ao dos demais tratamentos.

Outro aspecto a ser ressaltado é o fato de que o uso do BHT não trouxe alterações para essas enzimas, indicando não haver danos hepáticos com o uso do aditivo sintético na ração.

A ausência de influências de bioativos da manga sobre as enzimas AST e ALT também foi relatada por Araújo (2012), em camundongos.

A ação hipolipemiante dos compostos obtidos da manga tem sido observada em alguns experimentos com ratos. Entretanto, esse efeito não foi verificado nesse experimento para as poedeiras, uma vez que não houve diferença significativa entre os tratamentos para a taxa de triglicerídeos e colesterol das aves.

Quanto ao efeito dos compostos bioativos presentes nos extratos da folha e da casca do tronco da mangueira sobre a lipídemia de camundongos, Araújo (2012), constatou que a adição dos extratos não influenciou os níveis de colesterol total, HDL e triglicerídeos. Segundo os pesquisadores, a resposta para ação dos extratos da manga sobre essas variáveis é

dependente do tipo de extrato, da dose, do animal e modelo experimental e por isso algumas vezes a ação hipolipemiante dos compostos obtidos da manga não é observada.

Baseados nos resultados bioquímicos, pode-se inferir que a adição de níveis de até 1000ppm de extrato do caroço da manga na ração não foi tóxico para as poedeiras.

Compostos fenólicos, atividade antioxidante e peroxidação lipídica do sangue

Conforme os resultados, não houve diferença significativa entre os tratamentos para a quantidade compostos fenólicos e atividade antioxidante do sangue das poedeiras (Tabela 20). Entretanto, houve efeito significativo entre os tratamentos para peroxidação lipídica.

Tabela 20. Compostos fenólicos, atividade antioxidante e peroxidação lipídica do sangue de poedeiras alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga

Rações	Variáveis			
	Ácidos fenólicos (µg/mL)	DPPH (%)	ABTS (%)	TBARS (nmol/mL)
Controle ¹	39,45	24,94	16,93	4,24a
BHT ² , 200ppm	36,58	25,30	13,22	4,20a
EECAR ³ , 200ppm	39,69	26,20	14,43	4,36a
EECAR, 400 ppm	39,41	26,69	15,35	4,14ab
EECAR, 600 ppm	38,73	27,20	15,03	3,99ab
EECAR, 800 ppm	36,51	25,72	16,25	3,64b
EECAR, 1000 ppm	37,08	26,05	15,09	4,19a
Médias	38,09	26,01	15,06	4,08
ANOVA ⁴		<i>p-valor</i>		
Rações	0,6993	0,9934	0,2749	0,0347
Regressão		<i>p-valor</i>		
Linear	0,1799	0,8656	0,5052	0,2913
Quadrática	0,9756	0,7999	0,4865	0,0461
CV(%) ⁵	10,08	19,51	12,91	7,84

¹Controle – ração sem antioxidante; ² BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³ EECAR – extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ANOVA- análise de variância; ⁵CV –coeficiente de variação.

Obteve-se a menor oxidação medida pelo menor valor de TBARS no sangue das aves alimentadas com 800ppm de extrato do caroço da manga na ração. Este resultado diferiu significativamente em relação aos obtidos com a ração controle, adição de BHT e adição de

extrato do caroço da manga nas doses de 200ppm e 1000ppm. Entre os demais tratamentos não houve diferença significativa.

Na análise de regressão para determinar a melhor dose do extrato, observou-se efeito quadrático ($Y = 4,986 - 32,914X + 239,29X^2$; $R^2 = 0,68$), indicando redução nos valores de TBARS no sangue, com adição do extrato na ração atingindo o mínimo valor com a dose estimada de 690ppm e aumento em doses superiores a esta.

De acordo com Schieber *et al.* (2003), entre os compostos polifenólicos já identificados na manga, estão: a mangiferina, ácido gálico (ácidos m-digálico e m-trigálico), galotaninos, quercetina, isoquercetina, ácido elágico, e β -glucogálico. E entre os flavonoides encontrados na manga incluem: a catequina, epicatequina, quercetina, isoquercetina (quercetina-3-glucosídeo), fisetina, e a astragalina (kempferol-3-glucosídeo) (HARBORNE, 1994). A fração polifenólica do extrato da manga é rica principalmente em mangiferina, catequina, e epicatequina (SCARTEZZINI; SPERONI, 2000).

Diversos estudos epidemiológicos *in vitro* sugerem que esses compostos podem ter efeitos benéficos sobre a saúde humana, devido ao sequestro de radicais livres e atividades antioxidantes (AUGUSTYNIAK *et al.*, 2005). As catequinas têm efeito protetor contra a insuficiência cardíaca congestiva (ISHIKAWA *et al.*, 1997), câncer (YAMANAKA *et al.*, 1997), insuficiência renal aguda (CHANDER *et al.*, 2003), além de reduzir a incidência de isquemia miocárdica e servir de apoio ao antienvhecimento.

Conforme demonstrado na literatura e nos dados da avaliação dos extratos obtidos do caroço da manga na preparação do material ser utilizado nessa pesquisa, a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos da manga está relacionada à concentração de compostos fenólicos e flavonoides. Dessa forma, o aumento da concentração do extrato do caroço da manga proporcionaria maior ingestão desses compostos pelas aves e esses poderiam aumentar a sua presença no sangue, contribuindo para aumentar a capacidade antioxidante do sangue e, assim, reduzir a sua peroxidação lipídica.

Embora a adição do extrato não tenha influenciado significativamente a concentração de compostos fenólicos no sangue e a sua capacidade antioxidante *in vitro*, foi possível comprovar a redução na oxidação lipídica até o nível ótimo estimado em 690ppm, bem como o efeito pró-oxidante de níveis superior a este.

Vale ressaltar que a presença de compostos diferentes dos constituintes normais do 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 regulariam a quantidade de compostos fenólicos no sangue.

Atividade da enzima glutaciona peroxidase nos órgãos

Conforme os resultados, não houve diferença significativa entre os tratamentos para atividade da glutaciona peroxidase nos órgãos das poedeiras (Tabela 21).

A ação antioxidante dos compostos obtidos da manga tem sido observada em alguns experimentos com ratos e relacionada a um aumento da atividade de enzimas como a superoxidesmutase (SOD) e catalase (CAT) hepática e renal. Entretanto, nesse experimento não houve diferença significativa entre os tratamentos para a atividade da glutaciona peroxidase nos órgãos de poedeiras (ARAÚJO, 2012).

Tabela 21. Atividade da glutaciona peroxidase em órgãos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo extrato etanólico do caroço da manga

Rações	Atividade da glutaciona peroxidase ($\mu\text{g/g}$ de tecido)			
	Ovário	Magno	Útero	Fígado
Controle ¹	48,65	158,59	57,95	521,3
BHT ² , 200ppm	47,59	170,68	64,23	513,4
EECAR ³ , 200ppm	48,42	173,83	53,48	514,7
EECAR, 400 ppm	55,22	169,04	57,57	501,3
EECAR, 600 ppm	48,84	165,80	57,47	505,5
EECAR, 800 ppm	58,79	159,28	56,47	562,1
EECAR, 1000 ppm	52,99	170,53	56,72	583,2
Médias	51,50	166,82	57,70	528,79
ANOVA ⁴	<i>p</i> -valor			
Rações	0,8779	0,7950	0,9893	0,9882
Regressão	<i>p</i> -valor			
Linear	0,4833	0,4574	0,8537	0,4547
Quadrática	0,6838	0,2699	0,8082	0,7027
CV(%) ⁵	29,58	11,05	33,38	34,51

¹Controle – ração sem antioxidante; ² BHT – butilato de hidroxitolueno (antioxidante sintético); ³ EECAR – extrato etanólico do caroço de manga; ⁴ANOVA- análise de variância; ⁵CV – coeficiente de variação.

Quanto ao efeito dos compostos bioativos presentes nos extratos da folha e das cascas do tronco da mangueira sobre a atividade de enzimas antioxidantes no fígado e nos rins de camudongos, Araújo (2012), constatou que a adição dos extratos não influenciou a atividade da superoxidesmutase (SOD) e da catalase (CAT) hepática e renal. Segundo o pesquisador, a resposta para ação dos extratos da manga sobre essas variáveis é dependente do tipo de extrato, da dose, do animal e modelo experimental e por isso algumas vezes o aumento

da atividade de algumas enzimas antioxidantes com o uso dos compostos obtidos da manga não é observado, mesmo tendo sido observado melhora no aspecto histopatológico do fígado gorduroso.

CONCLUSÃO

A utilização do extrato etanólico do caroço da manga não afeta o hemograma, os parâmetros bioquímicos e os compostos fenólicos do sangue das poedeiras, assim como a atividade da enzima glutathione peroxidase nos órgãos. No entanto, reduz a peroxidação lipídica no sangue das aves alimentadas com a adição de até 690ppm.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Diante dos resultados encontrados nesta pesquisa, pode-se inferir que o resíduo do processamento da manga, mais especificamente o caroço, pode ser utilizado para a produção de extratos vegetais naturais com atividade antioxidante.

A comprovação da atividade antioxidante do extrato etanólico do caroço da manga *in vitro* e posteriormente a constatação dos seus benefícios *in vivo* agrega valor à cadeia produtiva, com a possibilidade de se obter um antioxidante natural para ser utilizado, em substituição aos antioxidantes sintéticos, na alimentação de poedeiras comerciais que conseqüentemente produzirão alimentos mais saudáveis para o consumo humano.

Apesar do extrato etanólico do caroço da manga apresentar efeitos benéficos em prevenir ou retardar a oxidação lipídica sem causar prejuízos para as variáveis produtivas como desempenho e qualidade dos ovos das poedeiras comerciais, as condições ótimas de condução do experimento com as aves pode limitar a expressão dos benefícios da utilização desse aditivo.

Portanto, sugere-se a realização de novos estudos com a utilização do extrato etanólico do caroço da manga na alimentação de poedeiras comerciais, baseado no princípio de que a ação do aditivo em beneficiar o animal, depende do nível de desafio a que o animal foi submetido.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A.E.M. *et al.* Egyptian mango by-product 2: antioxidante and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. **Food Chemistry**, v.103, p.1141-1152, 2007.
- AJILA, C.M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. **Food Chemistry**, v.105, p.982-988, 2007.
- AKTER, Y. *et al.* Effect of storage time and temperature on the quality characteristics of chicken eggs. **Journal of Food, Agriculture & Environment**. v.12 (3&4). 87-92. 2014.
- ALLEONI, A. C. C.; ANTUNES, A. J. Albumen foam stability and s-ovalbumin contents in eggs coated with whey protein concentrate. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, 6: 105–110. 2004.
- AMENSOUR, M. *et al.* Antioxidant activity and total phenolic compounds of myrtle extracts. **CyTA - Journal of Food**, v.8, p 95-101, 2010.
- AMORIM, A. G.; TIRAPGUI, J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. **Revista de Nutrição**, v.21, n.5, 2008.
- ANDREO D.; JORGE N. **Antioxidantes naturais: técnicas de extração**. B Ceppa, Curitiba, v.24, n. 2: p. 319-36, 2006.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ANTUNES, A. J.; CANHOS, V. **Aditivos em alimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, 1984.
- ARABSHAHI-DELOUEE, S.; UROOJ, A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1233 – 1240, 2007.
- ARAÚJO, B. M. **Bioatividades do extrato da folha da mangueira (*Mangifera indica*, variedade Ubá) e da mangiferina em camundongos ApoE^{-/-}**. 2012. 83 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa. 2012.
- ARUOMA, O. I. *et al.* Effect of hydroxytyrosol found in extra virgin olive oil on oxidative DNA damage and on low-density lipoprotein oxidation. **J. Agric. Food Chem.**, v.46, p.5181-5187, 1998.
- AUGUSTYNIAK, A. *et al.* Preventive action of green tea from changes in the liver antioxidant abilities of different aged rats intoxicated with ethanol. **Nutrition**. 21:925–32. 2005.
- BARBOSA, N. A. A. *et al.* Qualidade de ovos comerciais provenientes de poedeiras comerciais armazenados sob diferentes tempos e condições de ambientes. **ARS Veterinaria**, Jaboticabal, SP. v.24, n.2, 127-133. 2008.

- BARBOSA, T. D. S. *et al.* Serum biochemical profile of laying hens in the region of Araçatuba, SP. *Semina: Ciências Agrárias*. Londrina, v. 32, n. 4, p. 1583 - 1588, 2011.
- BARREIROS, A. L. *et al.* Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v.29, p.113-23, 2006.
- BARRETO, J. C. *et al.* Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.56, p.5599-5610, 2008.
- BARRETO, S. C. S. *et al.* Ácidos graxos da gema e composição do ovo de poedeiras alimentadas com rações com farelo de coco. *Pesquisa Agropecuária*, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1767-1773, 2006.
- BAUCELLS, M. D. *et al.* Incorporation of different polyunsaturated fatty acids into eggs. *Poultry Science*, Champaign, v. 79, p. 51-59, 2000.
- BELLÓ, A. **Dano oxidativo e Regulação Biológica pelos Radicais Livres**. Porto Alegre: Editora Ulbra, p.15-19, 2002.
- BERNARDINI, N. *et al.* Screening of mango (*Mangifera indica L.*) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C- glycosides, anthocyanins, and pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.53, p.1563-1570, 2005.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA. 255p. 2012.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA. 301p. 2006.
- BIANCHI, M.; ANTUNES, L. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista da Nutrição*, v.12, p.123-30, 1999.
- BÖHM, F. *et al.* Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency. *Journal of American Chemical Society*, v. 119, p. 621-622, 1997.
- BORN, F. W-3 products: from research to retail. *World Review Nutrition Diet*, Washington, v. 83, p. 166-175, 1998.
- BORSA, A. *et al.* Valores hematológicos em frangos de corte de criação industrial. *Colloquium Agrariae*, v.5, p.25-31. 2009.
- BOTSOGLOU, E. *et al.* Lipid oxidation of stored eggs enriched with very long chain n3 fatty acids, as affected by dietary olive leaves (*Olea europea L.*) or α -tocopheryl acetate supplementation. *Food Chemistry*, v. 134, p. 1059-1068, 2012.
- BOTSOGLOU, N. *et al.* The effect of feeding rosemary, oregano, saffron and α -tocopheryl acetate on hen performance and oxidative stability of eggs. *South African Journal of Animal Science*, v.35, p.143-151, 2005.

BOVŠKOVÁ, H; MÍKOVÁ, K. Factors Influencing Egg White Foam Quality. **Czech J. Food Sci.** v.29, n.4: 322-327. 2011.

BOZKURT, M. *et al.* Performance, egg quality, and immune response of laying hens fed diets supplemented with mannan-oligosaccharide or an essential oil mixture under moderate and hot environmental conditions. **Poultry Science**, v.91, p.1379-1386, 2012.

BRAND-WILLIAMS, W. *et al.* Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel – Wissenschaft und –Technologie**. v.22, n.1, p.25-30, 1995.

BRAZ, N. M. **Líquido da castanha de caju como fonte de ácido anacárdico na alimentação de poedeiras comerciais**. Tese (doutorado). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2015.

BRIZ, R. C. Ovos com teores mais elevados de ácidos graxos Omega 3. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS, 7., 1997, São Paulo. **Anais...** São Paulo: APA. p. 153-193. 1997.

BUTOLO, J. E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Botucatu: UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 430 p. 2002.

CARVALHO, F. B. *et al.* Influência da conservação e do período de armazenamento sobre a qualidade interna e da casca de ovos comerciais. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Supl. 5, p.100, 2003.

CARVALHO, M. G. **Influência do processamento, de antioxidantes e da estocagem sobre a estabilidade oxidativa lipídica do ovo**. 2012. 156p. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v.21, n.1, p. 99-105, 1998.

CHANDER, V. *et al.* Catechin, a natural antioxidant protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. **Pharmacol Res.** 48(5):503–9. 2003.

CHERIAN, G. *et al.* Conjugated Linoleic Acid and Fish Oil in Laying Hen Diets: Effects on Egg Fatty Acids, Thiobarbituric Acid Reactive Substances, and Tocopherols During Storage. **Poultry Science**. v. 86, p.953–958, 2007.

CHERIAN, G. *et al.* Dietary oils added tocopherols: Effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, p. 423-431, 1996.

CHERIAN, G. *et al.* Muscle Fatty Acid Composition and Thiobarbituric Acid-Reactive Substances of Broilers Fed Different Cultivars of Sorghum. **Poultry Science**, v. 81, p. 1415–1420. 2002.

CONEGLIAN, S. M. *et al.* Utilização de antioxidantes nas rações. **PUBVET-Publicação em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Ed.152, Londrina, v.5, n. 5, 33p., 2011.

CONN P. F. *et al.* The singlet oxygen and carotenoid interaction. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 11, p. 41–47, 1991.

COSGROVE, J. P. *et al.* The kinetics of autoxidation of polyunsaturated fatty acids. **Lipids, Champaign**, v. 22, n. 5, p. 299-304, 1987.

COSTA, F. G. P. *et al.* Influência do óleo de linhaça sobre o desempenho e a qualidade dos ovos de poedeiras semipesadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, n.5, p.861-868, 2008.

COTRIM, W. S. Antioxidantes naturais e seus efeitos sobre a cor e nível oxidativo de carne bovina. **Revista ABCZ**, nº60, p. 52-55, 2011.

CREEL, S. Social dominance and stress hormones. **Trends in Ecology and Evolution**, v.16 No.9, 2001.

CUPPETT, S. L. **The use of natural antioxidants in food products of animal origin**. In: Antioxidants in Food: Practical applications. Jan Pokorny, Nedyalka Yanishlieva and Michael Gordon (eds.), Cambridge, England, 2001.

DAMODARAN, S. *et al.* **Química de Alimentos de Fennema**. 4ª edição. Artmed, Porto Alegre, 2010.

DAVEY, M. W. *et al.* Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, 825–860, 2000.

DIBNER, J. J. *et al.* The effect of dietary ingredients and age on the microscopic structure of the gastrointestinal tract in poultry. **J. Applied Poult. Sci.**, 5(3):70-77. 1996.

DORTA, E. *et al.* Improving the efficiency of antioxidant extraction from mango peel by using microwave-assisted extraction. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.68, p.190-199, 2013.

DRAPER, H. H; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**. 186: 421-431. 1990.

ENGBERG, R.M. *et al.* Inclusion of oxidized vegetable oil in broiler diets. Its influence on nutrient balance and on antioxidative status of broilers. **Poultry Science**, v.75, p.1003-1011, 1996.

FAITARONE, A. B. G. **Fornecimento de fontes lipídicas na dieta de poedeiras e seus efeitos sobre o desempenho, qualidade dos ovos, perfil de ácidos graxos e colesterol na gema**. 2010. 108 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. 2010.

FENNEMA, O. R. **Food chemistry**. 3.ed. New York: Marcel Dekker, 1067p, 1996.

FISCHER, G. *et al.* Peroxidação em amostras de milho, protegidas ou não por etoxiquim. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, p.227-232, 2005.

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

FRANCHINI, A. *et al.* Oxidative stability and sensory and functional properties of eggs from laying hens fed supranutritional doses of vitamins E and C. **Poultry Science** **Poultry Science**, v.81, p.1744-1750, 2002.

FRANCO, J. R. G.; SAKAMOTO, M. I. Qualidade dos ovos: uma visão geral dos fatores que a influenciam. **Revista Ave World**, Ano 3, n.16, 2005.

FRANCO, S. G. **Programas de alimentação e fontes de óleo para frangos de corte**. 1992. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 1992.

FREITAS, E. R. *et al.* do. Extratos etanólicos da manga como antioxidantes para frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p.1025-1030, 2012.

FREITAS, E. R. *et al.* Extratos etanólicos de manga como antioxidantes na alimentação de poedeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v.48, n.7, p.714-721. 2013.

FREITAS, E.R. *et al.* Comparação de métodos de determinação da gravidade específica de ovos de poedeiras comerciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.509-512, 2004.

FREITAS, E.R. *et al.* do. Extratos etanólicos da manga como antioxidantes para frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p.1025-1030, 2012.

GALOBART, J. *et al.* α -Tocopherol Transfer Efficiency and Lipid Oxidation in Fresh and Spray-Dried Eggs Enriched with ω 3-Polyunsaturated Fatty Acids. **Poultry Science**. 80:1496–1505. 2001.

GARCIA, E. R. M. *et al.* Qualidade de ovos de poedeiras semipesadas armazenados em diferentes temperaturas e períodos de estocagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v. 11, n. 2, p. 505-518. 2010.

GENOVESE, M. I. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Sci. Tech. Int.**, v. 14. n. 3. p. 207-214. 2008.

GÓMEZ, M. E. D. B. **Modulação da composição de ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta: I estabilidade oxidativa**. 2003. 149 f. Tese (Doutorado em Bromatologia)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

GÓMEZ-RUIZ, J. A. *et al.* In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 17, p. 6962-6969, 2007.

GRANDIN, T. Objective scoring on animal handling and stunning practices in slaughter plants. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, Chicago, v.212, p.36-39, 1998.

GROBAS, S. *et al.* Influence of source and percentage of fat added to diet on performance and fatty acid composition of egg yolk of two strains of laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 80, p. 1171-1179, 2001.

HALIFEOGLU, I. *et al.* Investigation of antioxidant vitamins (A, E and C) and selenium levels in chickens receiving estrogen or testosterone. **Cell Biochemistry Function**, Chichester, v.21, n.2, p.133–136, 2003.

HALLIWELL, B. *et al.* The characterization on antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

HALLIWELL, B. **Oxidants and human disease: some new concepts**. FASEB J., 1 ed., p. 358-364. 1987.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3.ed. Oxford, New York, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in Biology and Medicine**. Oxford: Clarendon Press, p.543, 1989.

HAMILTON, R. J. *et al.* In Rancidity in Foods; Allen J. C., Hamilton R. J., Ed.; **Applied Science Publishers LTD**. p. 1. London. 1983.

HAMMERSHØJ, M.; QVIST, K. B. Importance of hen age and egg storage time for egg albumen foaming. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**. 34: 118–120. 2001.

HANDL, S. *et al.* Effect of oregano (*Majorana x Vulgare*) on performance and antioxidant capacity of quails fed a diet rich ω 3 fatty acids. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.92, p.242-245, 2008.

HARBORNE, J. B. **The flavonoids: advances in research since 1986**. London , UK : Chapman & Hall. 676 p. 1994.

HARGIS, P. S. *et al.* Dietary modification of yolk lipid with menhaden oil. **Poultry Science**, v.70, n.4, p.874-883, 1991.

HATTA, H. *et al.* Chemical and physicochemical properties of hen eggs and their application in foods. In: YAMAMOTO, T. *et al.* **Hen Eggs**. Their Basic and Applied Science. CRC Press, Boca Raton: 117-134. 1997.

HAYAT, Z. *et al.* Oxidative stability and lipid components of eggs from flax-fed hens: effect of dietary antioxidants and storage. **Poultry Science**, v.89, p.1285-1292, 2010.

HOLLAND, B. *et al.* **The composition of foods**. 5th ed. Cambridge: Redwood Books. 462 p. 1997.

HUBER, K. *et al.* Caracterização química do resíduo agroindustrial da manga Ubá (*Mangifera indica* L.): uma perspectiva para a obtenção de antioxidantes naturais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.6, p.640-654, 2012.

- ISHIKAWA, T. *et al.* Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. **Am J Clin Nutr.** 66:261–6. 1997.
- JANASZEWSKA, A.; BARTOSZ, G. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.** 62(3):231-6. 2002.
- JESUS, D. N. C. **Avaliação dos efeitos da adição do óleo essencial de orégano (*origanum vulgare*) na dieta, sobre a fisiologia e a produtividade de codornas japonesas (*Coturnix Coturnix Japonica*).** 2007. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade de Brasília, Brasília, 2007.
- JOHNSON, M. L. *et al.* 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**, v. 87. p. 958-963. 2008.
- KONAN, N. A. Acute, subacute toxicity and genotoxic effect of hydroethanolic extract of the cashew (*Anacardium occidentale* L.) **J. Ethnopharmacol**, v.110, p.30 – 38. 2007.
- KRAUSE, E. L.; TERNES, W. Bioavailability of the antioxidative *Rosmarinus officinalis* compound carnosic acid in eggs. **Eur Food Res Technol.** 210: 161. 2000.
- KUCUK, O. *et al.* Egg production, egg quality, and lipid peroxidation status in laying hens maintained at a low ambiente temperature (6°C) and fed a vitamin C and vitamin E-supplemented diet. **Veterinárni Medicína**, v.48, p.33-40, 2003.
- LAGUERRE, M. *et al.* Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Review. Progress in Lipid Research.** v. 46, p. 244-282, 2007.
- LEE, S. K. *et al.* Antioxidant activity of phosphatidylcholine liposomes and meat model systems. **Journal of Food Science**, 67, 37–41, 2002.
- LEESON, S.; SUMMERS, D.J. **Nutrition of the chicken.** 4th ed. Ontario: University Books, 413p. 2001.
- LEWIS, N. M. *et al.* Enriched eggs as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids for humans. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, p. 971-974, 2000.
- LINKO, Y. Y.; HAYAKAWA, K. Decohexanoic acid: Avaluable nutraceutical. **Trends in Food Science and Technology**, London, v. 7, n. 2, p. 59-63, 1996.
- LOLIGER, J. **The use of antioxidants in food.** In *Free Radicals and Food Additives*; Aruoma, O. I., Halliwell, B., Eds.; Taylor and Francis: London, p.129-150, 1991.
- LOMAKINA, K; MÍKOVÁ, K. A study of the factors affecting the foaming properties of egg white – a Review. **Czech J. Food Sci.** v.24, n.3: 110-118. 2006.
- LUNA, A. *et al.* Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. **Poultry Science**, v.89, p.366-370, 2010.

MACARI, M. *et al.* **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2ª Ed. Editora Funep. Jaboticabal: FUNEP/FUNESP, 375 p. 2002.

MACHLIN, L. J.; BENDICH, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. **FASEB Journal**, Bethesda, v.1, n.6, p.441-445, 1987.

MAGALHÃES, A. P. C. **Qualidade de ovos comerciais de acordo com a integridade da casca, tipo de embalagem e tempo de armazenamento**. 34 f. Dissertação. 2007. (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

MARIUTTI, L.R.B.; BRAGAGNOLO, N. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.68, p.1-11, 2009.

MATES, J. M. *et al.* Antioxidant enzymes and human diseases. **Clin. Biochem.**, v.32, p.595-603, 1999.

MAZALLI, M. R. *et al.* A comparison of the feeding value of different sources of fats for laying hens: 2. Lipid, cholesterol and vitamin E profiles of egg yolk. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, v. 13, p. 280-290, 2004.

McNULTY, H. P. *et al.* Differential effects of carotenoids on lipid peroxidation due to membrane interactions: X-ray diffraction analysis. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1768, n. 1, p. 167-174, 2007.

MELO, E. A. *et al.* Atividade antioxidante de extratos de coentro (*Coriandrum sativum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.195-199, 2003.

MELO, E. A. *et al.* Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Recife, vol.44, n.2, 2008.

MINAFRA; C.S. *et al.* Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimenta dos com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa -MG, v. 39, n. 12, p. 2991- 2996, 2010.

MIRANDA, E. M. C. *et al.* Enzimas que participam como barreiras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Catalasa. **Rev Cubana InvestBioméd**, v. 15(2), 1996.

MORENG, R. E.; AVENS, J. S. **Ciência e produção de aves**. Roca, São Paulo. p. 227-249, 1990.

MORI, A. V. *et al.* Effect of dietary lipid lowering drugs upon plasma lipids and egg-yolk cholesterol levels of laying hens. **Journal of Agriculture and Food Science**, v.47, p.4731-4735, 1999.

MORI, A. V. **Utilização de óleo de peixe e linhaça na ração como fontes de ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 em ovos**. 2001. 162 f. Tese (Doutorado em Clínica Médica)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

- MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins - a review. **Animal Feed Science Technology**. v.91, n,1-2, p.3-20, 2001.
- MURAMATSU, K. *et al.* Desempenho, qualidade e composição de ácidos graxos do ovo de poedeiras comerciais alimentadas com rações formuladas com milho ou milheto contendo diferentes níveis de óleo vegetal. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.27, n.1, p.43-48, 2005
- MURATA, L. S. *et al.* Effect of oils sources on blood lipid parameters of commercial laying hens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.5, n.3, p.203-206, 2003.
- NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. Critical Reviews **Food Science Nutrition**, Lauderdale, v.29, n.4, p.273-300, 1990.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9.ed. Washington, D.C.: National Academy Press. 155p. 1994.
- NORDBERG, J.; ARNÉR, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 31, n.11, p. 1287 - 1312, 2001.
- OISHI, K. *et al.* Differential effects os physical and psychological stressors on immune functions of rats. **Stress**, v.6, n.1, p.33-40, 2003.
- ORDOÑEZ, J. A. *et al.* **Tecnologia de alimentos** –Alimentos de origem animal , Porto Alegre: Artmed, 2v., v. 2 , , 279p. 2005.
- ÖZEKU, K. *et al.* Effects of dietary herbal essential oil mixture and organic acid preparation on laying traits, gastrointestinal tract characteristics, blood parameters and immune response of laying in a hot summer season. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.20, p.575-586, 2011.
- OZER, J. *et al.* The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. **Toxicology**. v.245, p.194-205, 2008.
- PAN, E. A. *et al.* Desempenho de poedeiras semipesadas arraçadas com a suplementação de selênio orgânico. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.16, n.1-4, p.83-89, jan-dez, 2010.
- PAPAS, A. M. Oil-soluble antioxidants in foods. **Toxicology and Industrial Health**, v.9, p.123-149, 1993.
- PARKER, T. L. *et al.* Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Grapes, Sun-Dried Raisins, and Golden Raisins and Their Effect on ex Vivo Serum Antioxidant Capacity. **J. Agric. Food Chem.** 55, 8472–8477. 2007.
- PARPINELLO, G. P. *et al.* Sensory evaluation of egg products and eggs laid from hens fed diets with different fatty acid composition and supplemented with antioxidants. **Food Research International**, v.39, p.47- 52, 2006.

PATON, N. D. *et al.* Absorption of selenium by developing chick embryos during incubation. In: LYONS, T.P.; JACQUES, K.A. Biotechnology in the Feed Industry. 18th Alltech's Annual symposium. **Proceedings...** Nottingham, UK: Nottingham University Press, p.107 - 121, 2002.

PATON, N. D. *et al.* Effect of providing organic selenium and chromium as yeast in laying hen diets on nutrient composition of eggs. **Poultry Science**. v.77, n.1, p.11, 1998.

PEREIRA, A. L. F. **Efeito dos lipídeos da ração sobre a qualidade, composição e estabilidade dos ovos de poedeiras comerciais**. 87f. 2009. (Dissertação) – Universidade Federal do Ceará – UFC. Fortaleza. 2009.

PEREIRA, A. L. F. *et al.* Antioxidant effect of mango seed extract and butylated hydroxytoluene in bologna-type mortadella during storage. **Cienc. Tecnol. Aliment**. v.31, p.135-140, 2011.

PEREIRA, A. L. F. *et al.* Estabilidade oxidativa de mortadelas contendo extrato da casca da manga (*Mangifera indica* L.). **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v.13, n.4, p.293-298, 2010.

PITA, M. C. G. *et al.* 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.

PITA, M. C. G. **Fontes marinhas e vegetais de PUFA's na dieta de poedeiras: efeito na composição lipídica da gema do ovo e tempo de incorporação dos ácidos graxos**. 2007. 138 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Sci. Technol**, v. 40, p. 1-11, 2007.

PRIOR, R. L. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, n. 3, p. 570S-578S, 2003.

PURAVANKARA, D. *et al.* Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica* L.) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butter-fat). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.522-526, 2000.

RACANICCI, A. M. C. *et al.* Efeito do uso de óleo de vísceras de aves oxidado na ração de frangos de corte sobre o desempenho, a composição da carcaça e a estabilidade oxidativa da carne da sobrecoxa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 443-449, 2008.

RACANICCI, A.M.C. *et al.* Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, v.218, p.521-524, 2004.

RADWAN, N. L. *et al.* Effect of Natural Antioxidant on Oxidative Stability of Eggs and Productive and Reproductive Performance of Laying Hens. **International Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 2, p. 134-150, 2008.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.755-760, 2006.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**. New York, v.26, p.1231–1237. 1999.

RIBEIRO, B. R. C. *et al.* Efeito do nível de ácido linoleico na ração de matrizes pesadas sobre o peso, composição e eclosão dos ovos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 789-796, 2007.

RICHHEIMER, S. L. *et al.* Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 73(4), 507-514. 1996.

RIZZO, P. V. *et al.* Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.801-807, 2010.

ROCHA, J. S. R. **Efeito da cantaxantina dietética para matrizes pesadas com idade avançada e do período de armazenamento dos ovos sobre a fertilidade, rendimento de incubação, nutrientes da gema e desenvolvimento embrionário.** 2011. 80 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

RODRIGUES, E. A. *et al.* Desempenho, qualidade da casca e perfil lipídico de gemas de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com níveis crescentes de óleo de soja no segundo ciclo de postura. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.27, n.2, p.207-212, 2005.

ROSS, D.; MOLDEUS P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In Vigo Pelfrey C (ed): **Membrane lipid oxidation**. 1th ed. Boca Raton, CRC Press, 1991;151- 70.

ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais.** 3. ed. Viçosa: UFV, 252p. 2011.

ROTAVA, *et al.* Bioquímica sanguínea de frangos de corte alimentados com subprodutos da uva. **Agrarian**, v.1, n.1, p.91-104. 2008.

RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado técnico**, v.128, Fortaleza, jul. 2007.

RUTZ, F. *et al.* Meeting selenium demands of moderns poultry: responses to Sel -Plex™ organic selenium in broiler and breeder diets. In: LYONS, T.P.; JACQUES, K.A. Nutritional biotechnology in the feed and food industries. 19th Alltech's Annual symposium. **Proceedings...** Nottingham, UK: Nottingham University Press, p.147-161, 2003.

SAKANAKA, S. *et al.* Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system. **Food Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 99–103, 2004.

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

SANTOS, M. S. V. **Avaliação do desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais, submetidas às dietas suplementadas com diferentes óleos vegetais.** Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2005. 74p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, 2005.

SANTOS, S. C. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, p. 630-32, 2007.

SARCINELLI, M. F. *et al.* Características dos ovos. Universidade Federal do Espírito Santo - UFES. **Boletim Técnico** - PIE-UFES: 00707, 2007.

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

SCARTEZZINI, P.; SPERONI, E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. **J Ethnopharmacol.** 71:23-43. 2000.

SCHEIDELER, S. E. *et al.* Strain and age effects on egg composition from hens fed diets rich in n-3 fatty acids. **Poultry Science**, v.77, p.192-196, 1998.

SCHIEBER, A. *et al.* Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins') peels by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.5006-5011, 2003.

SCHMIDT, E. M. S. *et al.* Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade AVÍCOLA – REVISÃO **Archives of Veterinary Science**, v 12, n.3. p.9-20, 2007

SCOTT, M. L. *et al.* Proteins and amino acids. In: **Nutrition of the chicken.** 3.ed. Ithaca: M.L. Scott & Associates, 1982. p.58.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of Total Protein-Bound, and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. **Analytical Biochemistry.** 25: 1192-1205. 1968.

SILVA, F. A. M. *et al.* Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, SP. vol. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, M. L. C. *et al.* Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669 – 682, 2010.

SILVERSIDES, F. G.; BUDGELL, K. The relationships among measures of egg albumen height, pH, and whipping volume. **Poultry Science.** 83: 1619-1623. 2004.

SLATER, T. F. Free radical mechanisms in tissue injury. **Biochem. J.**, v.222, p.1-15, 1984.

SMET, K.; RAES, K.; SMET, S. Novel approaches in measuring the antioxidative potential of animal feeds: the FRAP and DPPH methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** v. 86, p. 2412 – 2416, 2006.

SMITH-PALMER, A. *et al.* Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Society for Applied Microbiology**, v. 26, p. 118–122, 1998.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. Campinas, v.15, n. 1, p. 71 – 81, 2002.

SPURLOCK, M. E.; SAVAGE, J. E. Effects of dietary protein and selected antioxidants on fatty hemorrhagic syndrome induced in Japanese quails. **Poultry Science**, Champaign, v.72, n.11, p.2095-2105, 1993.

STADELMAN, W. I.; COTTERILL, O. J. Foaming. In: Egg Science & Technology. **Food Product Press, HaworthPress Inc.** Binghamton: 418–434. 1994.

SURAI, P.F. **Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction**. 1.ed., Nottingham, UK: Nottingham University Press,. 2002.

TAKEMOTO, E. *et al.* Validação de metodologia para determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas porCLAE/UV. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1189-1194, 2009.

TANAKA, K. *et al.* Interactions between Vitamin C and Vitamin E Are Observed in Tissues of Inherently Scorbutic Rats. **American Society for Nutritional Sciences: Journal of Nutrition**, n. 127, p. 2060–2064, 1997.

TESSARI, E.N. *et al.* Parâmetros hematológicos de frangos de corte alimentados com ração contendo aflatoxina B1 e fumonisina B1. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p.924-929, 2006.

TIRAPEGUI, J. **Nutrição: fundamentos e aspectos atuais**. São Paulo: Atheneu. 304 p. 2000.

VASCONCELOS, S. M. L. *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**. Vol. 30, No. 5, 1323-1338, 2007.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic Compound Biochemistry**. Ed. Springer, 2006.

VIEIRA, L. M. *et al.* Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic.** v.33. n.3. Jaboticabal. 2011.

WANG, P. J. *et al.* Effects of phenyllactic acid on production performance, egg quality parameters, and blood characteristics in laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v.18, p.202-209. 2009.

WHITEHEAD, C. C. *et al.* Regulation of plasma oestrogen by dietary fats in the laying hen: relationships with egg weight. **British Poultry Science**, v.34, p.999-1010, 1993.

WHITEHEAD, C. C. *et al.* The effects of dietary fat and bird age on the weight of eggs and egg components in the laying hen. **British Poultry Science**, v.32, p.565-575, 1991.

XAVIER, I. M. C. *et al.* Qualidade de ovos de consumo submetidos a diferentes condições de armazenamento. **Arq. Bras. de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.953-959, 2008.

YAMANAKA, N. *et al.* Green tea catechins such as (+)-epicatechin and (-)-epigallocatechin accelerate Cu²⁺-induced low-density lipoprotein oxidation in propagation phase. **FEBS Lett.** 401:230–4. 1997.

ZHAO, X. *et al.* Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) on laying performance and antioxidant status of laying hens and on dietary oxidation stability. **Poultry Science**, v.90, p.1720-1727, 2011.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.5165-5170, 2001.

ZHOU, S.; DECKER, E. A. Ability of carnosine and other skeletal muscle components to quench unsaturated aldehydic lipid oxidation products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 51–55. 1999.