

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE - CEO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PATRICIA RODRIGUES ANTELO LÓPEZ GARCIA

DESEMPENHO E QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS ALIMENTADAS
COM DIETA SUPLEMENTADA COM PRÓPOLIS VERMELHA

CHAPECÓ

2021

PATRICIA RODRIGUES ANTELO LÓPEZ GARCIA

**DESEMPENHO E QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS ALIMENTADAS
COM DIETA SUPLEMENTADA COM PRÓPOLIS VERMELHA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração Ciência e Produção Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia

Orientadora:

PhD Lenita de Cássia Moura Stefani

Co-orientadores:

Drº Marcel Manente Boiago

Drª Denise Nunes Araujo

CHAPECÓ

2021

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CEO/UDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Garcia, Patricia Rodrigues Antelo López
Desempenho e qualidade dos ovos de codornas alimentadas com
dieta suplementada com própolis vermelha. / Patricia Rodrigues
Antelo López Garcia. -- 2021.
57 p.

Orientadora: Lenita de Cássia Moura Stefani
Coorientador: Marcel Manente Boiago
Coorientadora: Denise Nunes Araujo
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2021.

1. antimicrobianos. 2. antioxidantes. 3. coliformes. 4. extrato
aquoso. 5. peroxidação lipídica. I. Stefani, Lenita de Cássia Moura.
II. Boiago, Marcel Manente. Araujo, Denise Nunes. III.
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação
Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV.
Titulo.

PATRICIA RODRIGUES ANTELO LÓPEZ GARCIA

**DESEMPENHO E QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS ALIMENTADAS
COM DIETA SUPLEMENTADA COM PRÓPOLIS VERMELHA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia do Centro de Educação Superior do Oeste da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Banca examinadora:

Orientadora:

Prof.^a PhD Lenita de Cássia Moura Stefani
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membros:

Prof.^a Dra. Karim Hahn Lüchmann
Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof.^o Dr. Tiago Goulart Petrolli
Universidade do Oeste de Santa Catarina

Chapecó, 03 de agosto de 2021.

À minha família, pela capacidade de acreditar e incentivar na realização do meu sonho. Obrigada pelo carinho e paciência. Com vocês, melhoro tudo o que tenho produzido na vida. Com amor!

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos à Deus, que é o caminho, a verdade e a vida! À Nossa Senhora, que me cobre com seu manto protetor. Às várias pessoas listadas abaixo, que com amor pelo que fazem, dispendo seu tempo e atenção, orientaram, auxiliaram, ensinaram, incentivaram ao longo dessa jornada com o potencial técnico de cada um:

À professora orientadora PhD Lenita de Cássia Moura Stefani;

Ao professor Dr^o Marcel Manente Boiago;

À professora Dr^a Denise Nunes Araujo;

A todos os professores da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC;

Às amigas e amigos: Arieli Zibetti França, Marcos José Migliorini, Guilherme Luiz Deolindo, Daniela Tomazi Nesi, Bruno Milhoreto Sponchiado, Maiara Rampazzo, Camile Hammes, Paulo Vinícius de Oliveira, Deise Terhorst, Jhonnata Cardoso, Patrick Iury Roieski, Malvina, Gaboardi, Ricardo, Antônio, Emília, Jô, Isabel.

Gratidão, gente linda!

Sou grata à minha família pelo apoio que sempre destinam durante toda a minha vida.

Agradeço a mim por ter escolhido o mestrado em zootecnia, como um dos meus projetos de vida; pela minha dedicação, persistência, constância, por não desistir, por ser generosa e sempre me doar muito mais do que receber. Quero me agradecer por ser eu mesma o tempo inteiro.

Deixo um agradecimento especial à minha orientadora pelo incentivo e por acreditar no meu projeto de vida.

RESUMO

DESEMPENHO E QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS ALIMENTADAS COM DIETA SUPLEMENTADA COM PRÓPOLIS VERMELHA

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da adição da própolis vermelha (PV) na alimentação de codornas sobre o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos. Para isso, 120 codornas, com 52 dias de idade, foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e seis repetições de cinco aves cada. Os tratamentos foram: TC, a dieta basal sem antimicrobiano e sem PV; TE, enramicina (10 mg/kg de ração); PV1, PV (1g/kg de ração) e PV2, PV (2g/kg de ração). O experimento teve duração de 63 dias subdivididos em três ciclos de 21 dias. Nos parâmetros avaliados do desempenho produtivo, como o consumo de ração por ave por dia, a produção, o peso médio e a massa de ovos, a conversão alimentar: kg de ração por kg de ovos produzidos e a conversão alimentar: kg de ração por dúzia de ovos produzidos não foi observada diferença estatística significativa nos tratamentos aos quais as aves foram submetidas. Quanto à qualidade dos ovos, foi observada a gema dos ovos com cor mais escura, maior intensidade de vermelho e menor intensidade de amarelo e o pH menor que 6,0 provenientes das codornas tratadas com PV comparadas ao TC. Nas análises microbiológicas a contagem de aeróbios mesófilos foi menor na superfície dos ovos tratados com PV1 quando comparado ao TE, no terceiro ciclo. Houve menor presença de colônias bacterianas na superfície dos ovos armazenados por 21 dias, das codornas tratadas com PV1 e TE quando comparados ao TC. No segundo e terceiro ciclo foi menor a presença de colônias de aeróbios mesófilos nas fezes das codornas quando comparados ao primeiro ciclo. No primeiro ciclo observou-se menos coliformes totais e *Escherichia coli* nas fezes das codornas tratadas com PV1 quando comparado ao TE. Após os 21 dias de armazenamento dos ovos foi observada menor perda de peso nos ovos e níveis menores de peroxidação lipídica da gema, das codornas alimentadas com TE e PV1. É possível concluir que a PV apresentou resultados promissores para ser utilizada como aditivo alimentar para codornas poedeiras já que manteve o desempenho produtivo destes animais e provocou melhoras qualitativas nas características físico-químicas e microbiológicas dos ovos produzidos.

Palavras-chave: Antimicrobianos. Antioxidantes. Coliformes. Extrato aquoso. Peroxidação lipídica.

ABSTRACT

PERFORMANCE AND QUALITY OF QUAIL EGGS FED WITH DIET SUPPLEMENTED WITH RED PROPOLIS

The objective of this study was to evaluate the effects of red propolis (RP) as a feed additive for laying quails regarding their performance and the quality of fresh and stored eggs. A total of 120 laying quails with 52 days of age were distributed in a completely randomized design with four treatments and six replicates of five birds each. The treatments consisted of a TC: treatment control feed without the use of antibiotics and RP; TE: feed with enramycin (10 mg/kg of feed); RP1: feed with RP (1g/kg of feed); RP2: feed with RP (2g/kg of feed). The experiment lasted 63 days subdivided into three cycles of 21 days each. The results of productive performance such as percentage of egg production, feed intake per quail per day, average egg weight, egg mass, feed conversion (kg of feed per kg of eggs) and feed conversion (kg of feed per dozen eggs) showed no significant difference between the four treatments. Fresh eggs showed significant difference in their yolk color, where a darkest color was identified, with higher intensity of red and lower intensity of yellow in the two treatments with RP when compared to the TC. Yolk pH was less than 6.0 in the two treatments with RP. Mesophilic aerobic count was lower on the surface of eggs treated with RP1 when compared to TE, in the third cycle. There was a lower presence of bacterial colonies on the surface of eggs stored for 21 days in quails treated with RP1 and TE when compared to TC. In the second and third cycle, the presence of mesophilic aerobic colonies in quail feces was lower when compared to the first cycle. In the first cycle, less total coliforms and less *Escherichia coli* were observed in the feces of quails treated with RP1 when compared to TE. After 21 days of egg storage, the lowest egg weight loss and lower levels of yolk lipid peroxidation were observed in quails fed with TE and RP1. It is possible to conclude that RP showed promising results to be used as a feed additive for laying quails, since it maintained the productive performance of these animals and caused qualitative improvements in the physicochemical and microbiological characteristics of the eggs.

Key words: Antimicrobials. Antioxidants. Aqueous extract. Coliforms. Lipid peroxidation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1	COTURNICULTURA.....	11
2.1.1	Qualidade dos ovos.....	12
2.2	ANTIMICROBIANOS VIA ALIMENTAÇÃO.....	13
2.3	PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	14
2.4	PRÓPOLIS VERMELHA.....	15
2.4.1	Atividade antimicrobiana.....	17
2.4.2	Atividade antioxidante.....	17
3	OBJETIVOS.....	19
3.1	OBJETIVOS GERAIS.....	19
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4	MANUSCRITO.....	20
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	57

1 INTRODUÇÃO

A coturnicultura ou criação de codornas têm apresentado desenvolvimento acentuado, adequando-se as novas tecnologias de produção, onde a atividade tida como de subsistência, passou a ocupar um cenário de atividade altamente tecnicizada com resultados promissores aos investidores (PASTORE et al., 2012).

No Brasil, os dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística mostram que o plantel de codornas em 2019 alcançou a marca de 17,4 milhões de aves, um aumento de 3,3%, frente a 2018 e a produção de ovos aumentou 5,6% (IBGE, 2020).

Alguns fatores relacionados a esse aumento, são decorrentes do rápido crescimento, precocidade na produção, maturidade sexual (35 dias a 42 dias), alta produtividade (média de 300 ovos/ano) e a persistência em elevada produção de ovos (14 a 18 meses) dessas aves (PINTO et al., 2002; BARRETO et al., 2007).

Barbosa et al. (2008) afirmaram que a qualidade da produção de ovos de codorna é um dos principais interesses dos produtores e consumidores de ovos, uma vez que está diretamente relacionada a fatores, como saúde e bem-estar dos animais. O aumento do consumo de ovos e o conhecimento de suas vantagens nutricionais pela população dependem da qualidade do que é oferecido ao consumidor, estabelecido por um conjunto de características que podem estimular o seu grau de aceitabilidade no mercado.

O ovo por se tratar de um alimento completo, de alta qualidade nutricional e preço acessível, torna-se um alimento mundialmente consumido, por ser rico em proteínas de alto valor biológico, vitaminas do complexo B, A, E, K, minerais como ferro, fósforo, selênio e zinco, carotenoides como a luteína e zeaxantina, e também fonte importante de colina, um importante componente do cérebro (HENRIQUE, 2002).

Os consumidores buscam por produtos de origem animal de qualidade, saudáveis e o setor produtivo se intensifica, melhora com o propósito de aumentar a produção, o retorno econômico dos produtores e a satisfação dos consumidores. Dentre as formas de melhoria dos meios produtivos, a nutrição dos animais se mostra como fator essencial para que alcance o desenvolvimento e intensificação dos sistemas produtivos (GENOVA et al., 2020).

A nutrição tem papel fundamental influenciando diretamente no desempenho zootécnico e as condições nutricionais ofertadas refletem no desempenho das aves durante a fase produtiva (BRUXEL, 2016). A alimentação fornecida, com ingredientes de qualidade, promove a expressão do potencial genético e zootécnico dos animais.

Os melhoradores de desempenho como os antimicrobianos utilizados na alimentação

das aves têm como objetivo controlar os agentes prejudiciais ao trato digestivo, promovendo o equilíbrio da microbiota do trato, e consequentemente, aumentar as taxas de crescimento e sobrevivência, melhorar a saúde do trato gastrointestinal, a eficiência alimentar e aumentar a disponibilidade dos nutrientes da dieta para as aves (PANDOLFI e MOTA, 2020).

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, por meio da Instrução Normativa nº 13 de 30 de novembro de 2004, estabelece o regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal, dentre estes estão os aditivos zootécnicos como os melhoradores de desempenho. Para fins desta regulamentação, considera-se: aditivo para produtos destinados à alimentação animal: substância, microrganismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizada normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais ou tenha efeito anticoccidiano (BRASIL, 2004).

Os antibióticos não são somente usados como melhoradores de desempenho. Eles também têm uso profilático e terapêutico, sendo imprescindíveis para a produção animal. Porém, os antimicrobianos como promotores de crescimento são utilizados em doses subterapêuticas na alimentação dos animais, a fim de inibir o crescimento de bactérias que secretem substâncias tóxicas que prejudiquem a absorção de nutrientes. Além disso, os antibióticos promovem a morte de bactérias Gram-positivas, melhorando a conversão alimentar devido a diminuição do consumo de energia por essas bactérias. A resistência a antimicrobianos implicou em muitas restrições ao uso de antibióticos por diversos países, inclusive o Brasil (PANDOLFI e MOTA, 2020).

Na busca por alternativas ao uso dos antimicrobianos pode-se sugerir a própolis que é uma mistura complexa, formada por material resinoso e balsâmico coletado pelas abelhas dos ramos, flor, pólen, brotos e exsudatos de árvores, além de secreções salivares e enzimas (FRANCO et al., 2000). A própolis tem sido estudada e reconhecida por propriedades farmacológicas, como antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, imunomodulatória, hipotensiva, cicatrizante, anestésica e anticarcinogênica (NIEVA MORENO et al., 1999).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 COTURNICULTURA

A coturnicultura industrial no atual cenário, possibilita aos produtores três tipos de codornas para a exploração: a codorna europeia (*Coturnix coturnix*), a codorna japonesa (*Coturnix japonica*) e a codorna americana conhecida como Bobwhite quail (*Colinus virginianus*). Essas linhagens possuem diferentes características de tamanho, peso, precocidade, coloração de casca de ovo, taxa de postura e coloração das penas. Essa distinção de características direciona cada uma dessas linhagens para uma determinada aptidão, seja para carne ou para ovos (ALBINO e BARRETO, 2003).

A criação de codornas com a finalidade de produzir carne e ovos iniciou-se em 1910, com os japoneses e chineses, que através de diversos cruzamentos entre espécies selvagens, conseguiram obter a *Coturnix coturnix japonica*, ou seja, a codorna doméstica (MURAKAMI et al., 1998).

Albino e Barreto (2003) relataram que a maturidade sexual das codornas geralmente é atingida aos 42 dias de idade para as fêmeas. É uma ave bastante resistente e pode ser criada tanto em regiões quentes ou frias, mas em condições de conforto térmico responde positivamente em produtividade, apresentando aumento e persistência na produção de ovos. A produção de ovos pode atingir 300 ovos por fêmea na sua vida útil de aproximadamente um ano.

As codornas japonesas atingem pesos sempre superiores a 100 gramas (115-180 gramas). Apresentam postura regular e grande rusticidade. Os ovos são grandes em relação ao tamanho do corpo, correspondendo a aproximadamente 8,1% do seu peso corporal, enquanto na galinha e na perua são de 3,0 e 1,9%, respectivamente (MURAKAMI et al., 1998).

Na alimentação de codornas, a ração representa cerca de 65 a 75% do custo de produção (FREITAS et al., 2005). Mendes e Saldanha (2004) afirmaram que um conjunto de técnicas relacionadas ao manejo, nutrição, vacinas e equipamentos contribuem para fazer da produção avícola brasileira uma atividade econômica com índices de produtividade equivalentes aos observados nos países mais desenvolvidos do mundo. Porém, para a obtenção de alta produtividade, alguns aditivos zootécnicos têm sido usados como melhoradores de desempenho, entre eles, os antimicrobianos melhoradores de desempenho (AMD).

2.1.1 Qualidade dos ovos

O ovo é considerado um dos alimentos mais completos em níveis nutritivos para o consumo humano (RÊGO et al., 2012), portanto considerado excelente fonte de ácidos

graxos, carboidratos, minerais, vitaminas e principalmente proteínas (GIAMPIETRO et al., 2008). A qualidade do ovo é determinada pela qualidade da casca, qualidade interna, resistência à manipulação, idade das aves, nutrição, genética e condição sanitária das aves.

O ovo por se tratar de um alimento completo e de alta qualidade e preço acessível, torna-se um alimento mundialmente consumido. Rico em proteínas de alto valor biológico, vitaminas do complexo B, A, E, K, minerais como ferro, fósforo, selênio e zinco, carotenoides como a luteína e zeaxantina, e também fonte importante de colina, um importante componente do cérebro (HENRIQUE, 2002).

A utilização de estratégias nutricionais com o intuito de melhorar a composição e qualidade dos produtos de origem animal destinado a alimentação da população, constitui-se em um elo entre a produção animal, a tecnologia de alimentos e a nutrição humana (BARRETO et al., 2006).

Neste sentido, o ovo se destaca por ser considerado um alimento de excelência nutricional devido sua proteína de alto valor biológico. Logo, o aumento do consumo de ovos e a utilização de seus benefícios nutricionais dependem da qualidade do produto que se oferece ao consumidor (BRESSAN e ROSA, 2002). Ademais o consumo de ovos traz muitos benefícios à saúde devido sua composição lipídica, a presença de vitaminas A, E, K e complexo B, minerais como ferro, fósforo, selênio e zinco, carotenoides como a luteína e zeaxantina, além de ser uma fonte importante de colina (HENRIQUE, 2002).

Mendonça (2013) salienta que os ovos são o modelo de referência para a transferência de nutrientes da dieta, haja vista que o tipo de ácido graxo presente na gema está relacionado ao tipo de lipídeo consumido pela ave. O ovo é perecível, e inicia a perda de sua qualidade logo após a oviposição, particularmente na ausência de adequados métodos de armazenamento, como constatado por Wardy et al. (2010).

2.2 ANTIMICROBIANOS VIA ALIMENTAÇÃO

No Brasil, o uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho é permitido e feito dentro de normas estipuladas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Estas normas entraram em vigor a partir de 2004, quando uma das principais mudanças foi a definição de níveis máximos para utilização de cada antimicrobiano. O relatório técnico da portaria do MAPA, nº 40, de 08 de janeiro de 2006 relata que o emprego de antimicrobianos em agropecuária, como aditivos e seus reflexos na saúde pública, tem recebido grande atenção, tendo sido objeto de muitas discussões em inúmeras reuniões

científicas. A enramicina é um antibiótico polipeptídico que apresenta uma potente atividade contra bactérias gram-positivas. É utilizada em medicina veterinária como aditivo zootécnico melhorador do desempenho. Não tem autorização de uso para fins terapêuticos em medicina humana ou veterinária. Seu mecanismo de ação está ligado à inibição da formação da parede celular bacteriana (BRASIL, 2006).

Lorençon et al. (2007) afirmaram que os melhoradores de desempenho são os principais aditivos de uso na alimentação animal, em particular na dieta de aves, sendo responsáveis pela melhoria na produtividade animal, principalmente nas fases iniciais de criação. A maioria dos antibióticos é constituída por produtos antibacterianos utilizados em doses subterapêuticas por quase toda a vida do animal, respeitando apenas o período de carência antes do abate.

Com a possibilidade do desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos, a Comissão Europeia (CE), pelo princípio da precaução, decidiu proibir a inclusão dos antibióticos promotores de crescimento na ração dos animais em acordo com o regulamento CE nº 1831/2003 (HUYGHEBAERT, 2011). Além do princípio da precaução estabelecido pela União Europeia e a crescente preocupação da população em consumir alimentos produzidos sem produtos químicos (antibióticos), um dos maiores desafios da avicultura é encontrar produtos alternativos capazes de substituir os antimicrobianos.

De acordo Huyghebaert et al. (2011) as estratégias de usar produtos alternativos aos antibióticos, na alimentação das aves, deverão apresentar efeitos semelhantes aos antibióticos melhoradores de desempenho.

2.3 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Quando alimentos lipídicos são mantidos a temperaturas elevadas pode ocorrer peroxidação lipídica e deterioração dos alimentos, com formação de produtos tóxicos. A peroxidação lipídica constitui a principal causa de deterioração dos ácidos graxos. Afastados do seu contexto de proteção natural, os compostos lipídicos sofrem, no decurso de processos de transformação e armazenamento, alterações do tipo oxidativa, as quais tem como principal consequência a modificação do sabor original e o aparecimento de odores e gostos característicos do ranço, o qual representa para o consumidor, ou para o transformador industrial, uma importante causa de depreciação ou rejeição (ZORRO, et al., 2012).

A peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO) pode ser definida como uma cascata de eventos bioquímicos resultantes da ação dos radicais livres sobre os lipídeos insaturados

das membranas celulares, gerando principalmente radical alquila, alcoxila e peroxila, levando à destruição de sua estrutura, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e, numa condição extrema, à morte celular (BENZIE, 1996). A LPO talvez se constitua no evento citotóxico primário que desencadeia sequência de lesões na célula. As alterações nas membranas levam a transtornos da permeabilidade, alterando o fluxo iônico e o fluxo de outras substâncias, o que resulta na perda da seletividade para entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula, alterações do DNA, oxidação da LDL e comprometimento dos componentes da matriz extracelular (proteoglicanos, colágeno e elastina) (VACA et al., 1988; BARBER e HARRIS, 1994).

A peroxidação lipídica que ocorre no ovo principalmente no armazenamento pode ser avaliada através da determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (FREITAS et al., 2013). O malonaldeído é o produto resultado da peroxidação lipídica de ácidos graxos que reage com o ácido tiobarbitúrico quando aquecido e a intensidade de peroxidação é medida através de leitura em espectrofotômetro (532 nm) (LUNA et al., 2010).

Esses parâmetros são utilizados para avaliar a qualidade de ovos, pois auxilia na avaliação do tempo de prateleira do produto. Considerando isto, a qualidade interna pode piorar devido ao tempo de armazenamento, já que, após a postura, o ovo tende a perder a qualidade de maneira contínua. Isso ocorre devido à casca possuir poros que possibilitam dentre diversos fatores, que temperatura elevada aliada a baixa umidade promovam maior ação da enzima anidrase carbônica, que acelera a dissociação do ácido carbônico em água e gás carbônico, que resulta em perda de qualidade constante (ALBINO et al., 2014).

A recomendação mais adequada de se conservar o ovo é sob refrigeração, entretanto no Brasil os ovos são comercializados em temperatura ambiente, o que compromete a conservação (PASCOAL et al., 2008).

2.4 PRÓPOLIS VERMELHA

Própolis é o nome genérico para a substância resinosa de composição complexa coletada pelas abelhas, a partir dos mais heterogêneos tipos de plantas. A palavra própolis é derivada do grego em que *pro* significa “em defesa de” e *polis* “cidade”, isto é, em defesa da cidade ou da colmeia (MARCUCCI, 1996; CASTALDO e CAPASSO, 2002; PRADO, 2008). A própolis é um conjunto de substâncias de origem botânica que formam uma resina, na qual é coletada pelas abelhas que a utilizam para fechar as aberturas indesejáveis da colmeia, promovendo proteção contra microrganismos, além de ser utilizada para embalsamar insetos.

Possui cor e consistência variadas, de acordo com a flora de cada região (GHISALBERTI, 1979).

A própolis começou a ser apreciada como meio para tratamento de problemas de saúde nos anos de 1950 e 1960 na ex-União Soviética e em países do leste da Europa, como Bulgária, República Tcheca e Polônia. Nos países do oeste europeu, na América do Sul e do Norte e no Japão, a própolis não adquiriu popularidade até 1980. Na metade dos anos 80, a própolis tornou-se um importante produto na medicina alternativa e complementar. O Japão é o principal importador de própolis, com preferência pela própolis brasileira (SALATINO et al., 2005).

Pesquisadores estudaram amostras de própolis coletadas de várias regiões do Brasil, objetivando classificá-las a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. Esses estudos indicaram a existência de uma grande diversidade de própolis dentro do território brasileiro sendo as regiões Sul e Nordeste as que possuem maior diversidade de própolis. As propriedades biológicas dependem do tipo da própolis testada, portanto, cada tipo de própolis pode ter aplicações diferentes (CORDEIRO et al., 2015).

A própolis vermelha brasileira é composta principalmente por flavonoides e compostos fenólicos (ALENCAR et al., 2007). A existência da própolis vermelha tem sido reportada em muitos países como na costa nordeste do Brasil (estados de Alagoas, Sergipe, Bahia, Paraíba e Pernambuco), Cuba, México e China. A ampla ocorrência geográfica desse tipo de própolis indica que sua origem botânica é diferente nos diversos países, bem como as características da flora, fauna e clima locais (LÓPEZ et al., 2014).

Para a própolis vermelha do nordeste brasileiro, as pesquisas de Silva e colaboradores (2008) indicaram que a sua origem botânica é a espécie *Dalbergia ecastophyllum* (Leguminosae), popularmente chamada de “rabo-de-bugio”, devido à correspondência química existente entre a própolis e os exsudatos resinosos produzidos por esta planta.

A própolis vermelha difere quimicamente das demais por possuir compostos classificados como isoflavonoides (daidzeína, formononetina, biochanina A, medicarpina, vestitol), chalcona (isoliquiritigenina), flavanona (liquiritigenina), neoflavonoide (dalbergina) e isoflavonol (neovestitol) (ALENCAR et al., 2007; DAUGSCH et al., 2008; OLDONI et al., 2011). A retusapurpurina A e a retusapurpurina B são identificadas como duas C30 isoflavanos, estas são responsáveis pela pigmentação a qual confere a coloração rubra da própolis vermelha (PICCINELLI et al., 2011).

De acordo com a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, no Anexo VI – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel, a própolis pode ser classificada

quanto ao teor de flavonoides em baixo teor (até 1%), médio (1 a 2%) e alto teor (acima de 2%). A mesma regulamentação considera 5% como valor mínimo de compostos fenólicos (BRASIL, 2001).

2.4.1 Atividade antimicrobiana

Os componentes da própolis como os flavonoides, o ácido caféico, ácido benzóico, ácido cinâmico, provavelmente agem na membrana ou parede celular do microrganismo, causando danos funcionais e estruturais (SCAZZOCCHIO et al., 2005). A própolis possui atividade antibacteriana maior contra bactérias gram-positivas e limitada contra gram-negativas (LU et al., 2005; MARCUCCI et al., 2001). Até o momento, não se tem dados que respondam o porquê desta menor atividade dos extratos de própolis contra bactérias Gram-negativas. Estas bactérias possuem uma parede celular quimicamente mais complexa e um teor lipídico maior, o que pode explicar essa maior resistência (VARGAS et al., 2004).

O mecanismo de atividade antibacteriana dos flavonoides da própolis vermelha pode ser atribuído principalmente ao dano na membrana citoplasmática causado pela menor fluidez da membrana, inibição da síntese de ácidos nucleicos causada pela topoisomerase, inibição do metabolismo no citocromo c-redutase NADH ou inibição da formação do biofilme, através da porina na membrana celular, alteração da permeabilidade da membrana, e atenuação da patogenicidade (XIE et al., 2015).

Denli et al. (2005) afirma que a própolis como aditivo natural para a alimentação animal pode ser usada na alimentação de aves como alternativa aos antibióticos. Tatli-Seven (2008) concluiu que a suplementação de própolis é como alternativa aos antibióticos em frangos de corte em condições de estresse térmico, usado para o desempenho e digestibilidade.

2.4.2 Atividade antioxidante

Flavonoides são relatados como os mais abundantes e efetivos antioxidantes na própolis. Existe uma correlação entre o alto conteúdo de flavonoides totais e a atividade anti-radicaais livres em extratos de própolis da Argentina (AHN et al., 2007). Da Silva et al. (2006) sugerem que os flavonoides desempenham importante papel na atividade antioxidante de extratos de própolis brasileira, mas outros fatores poderiam estar envolvidos (CHOI et al., 2006). Embora estudos com extratos etanólicos de própolis sejam mais comuns, é relatado

que o extrato aquoso possui uma boa atividade antioxidante, associada ao alto teor de compostos fenólicos (MANI et al., 2006; VICENTINO e MENEZES, 2007).

Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais (PIETTA, 2000). Analisando os compostos bioativos da própolis vermelha, Oldoni et al. (2011) isolaram dois isoflavonóides (vestitol e neovestitol) e verificaram que os mesmos apresentam alta atividade antioxidante. Contudo, o vestitol se mostrou mais eficiente no teste de inibição do consumo de caroteno quando comparado ao neovestitol. O consumo de caroteno está relacionado com a formação de hidroperóxidos de ácido linoleico, e é um método utilizado para verificar o poder de antioxidação de uma substância.

O potencial antioxidante de um composto é determinado pela reatividade dele como um doador de elétrons ou hidrogênio, capacidade de deslocar ou estabilizar um elétron desemparelhado, reatividade com outro antioxidante e reatividade com oxigênio molecular. Outros efeitos fisiológicos da ação de compostos antioxidantes seriam sua atuação como anticancerígenos e antimutagênicos sempre considerando que estes problemas ocorram por ação de radicais livres (MORAES e COLLA, 2006).

A formação de radicais livres está associada com o metabolismo normal de células aeróbicas. O consumo de oxigênio inerente à multiplicação celular leva a geração de uma série de radicais livres. A interação destas espécies com moléculas de natureza lipídica em excesso produz novos radicais: hidroperóxidos e diferentes peróxidos. Estes grupos de radicais podem interagir com os sistemas biológicos de formas citotóxicas. Com respeito a isto, flavonoides e fenóis têm sido reportados por possuírem atividade antioxidante contra os radicais livres, a qual está associada às propriedades redox dos grupos hidroxil e a sua relação com diferentes partes da estrutura química (BENAVENTE-GARCÍA, et al., 1999)

Estudando o efeito do extrato de própolis na dieta de codornas japonesas sobre a ação oxidante que ocorre no ovo, Zeweil et al. (2016), observaram que o marcador de estresse oxidativo, malondialdeído, diminuiu 23,6% e 25,8% para os tratamentos que continham própolis a 250 e 500 mg/kg, respectivamente. A capacidade antioxidante total aumentou 9% para o tratamento com 250 mg/kg, e 21% para o tratamento com 500 mg/kg de própolis em comparação ao controle.

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres é chamado de estresse oxidativo (KIRSCHIVIK e LEKEUX, 2005; VALKO et al., 2007). Entre os principais danos celulares causados por esses radicais está a oxidação dos lipídios das membranas celulares, levando à perda da fluidez e

aumento da permeabilidade das membranas, com liberação de nutrientes e substâncias tóxicas à célula no espaço extracelular, e até mesmo sua ruptura (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; DAMASCENO et al., 2002). As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) são um dos principais marcadores biológicos desse tipo de lesão em membranas celulares (DRAPER e HADLEY, 1990). A peroxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração de produtos alimentícios (OLMEDO et al., 2014).

Contudo, é de extrema importância a busca por aditivos naturais que possam ser usados na alimentação de animais e a literatura escassa com relação a trabalhos utilizando a própolis vermelha na alimentação de codornas de postura e seus efeitos no desempenho zootécnico e na qualidade dos ovos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a eficiência do extrato aquoso de própolis vermelha no desempenho produtivo das codornas japonesas em postura e a qualidade física e microbiológica dos ovos produzidos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar se o uso da própolis vermelha promove melhorias na qualidade dos parâmetros analisados dos ovos frescos e armazenados das codornas.

Verificar se a própolis pode ser uma alternativa ao antibiótico enramicina.

Verificar se a própolis atuará como antioxidante dos ovos das codornas.

Verificar a peroxidação lipídica e perda de peso nos ovos armazenados por 21 dias à temperatura ambiente.

4 MANUSCRITO

Os resultados desta dissertação estão apresentados na forma de um manuscrito, com sua formatação de acordo com o periódico *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (ISSN: 1678-2690) ao qual será submetido.

Red propolis: benefits on quails performance and egg quality

Autores:

Patricia Rodrigues Antelo López Garcia (<https://orcid.org/0000-0002-9899-3586>)¹

Lenita de Cássia Moura Stefani (<https://orcid.org/0000-0002-0814-8726>)^{2*}

Marcel Manente Boiago (<https://orcid.org/0000-0002-0950-4577>)³

Denise Nunes Araujo (<https://orcid.org/0000-0001-9606-5447>)³

Arieli Zibetti França (<https://orcid.org/0000-0003-0346-6466>)¹

Bruno Milhoreto Sponchiado (<https://orcid.org/0000-0001-9974-7769>)¹

Daniela Tomazi Nesi (<https://orcid.org/0000-0002-2132-7040>)¹

Guilherme Luiz Deolindo (<https://orcid.org/0000-0001-9734-6902>)¹

Maiara Rampazzo (<https://orcid.org/0000-0003-3995-8024>)¹

Marcos José Migliorini (<https://orcid.org/0000-0002-7626-4817>)⁴

Paulo Vinicius de Oliveira Junior (<https://orcid.org/0000-0001-7496-9314>)¹

¹Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste,
Departamento de Zootecnia, Rua Beloni Trombeta Zanin, 680E, 89815-630 Chapecó, SC,
Brasil

^{2*}Universidade do Estado de Santa Catarina, Departamento de Educação Científica e
Tecnológica do Centro de Educação a Distância, Avenida Madre Benvenuta, 2007, Itacorubi,
88035-901 Florianópolis, SC, Brasil.

³Universidade do Estado de Santa Catarina, Programa de pós-graduação em Zootecnia do Centro de Educação Superior do Oeste, Rua Beloni Trombeta Zanin, 680E, 89815-630 Chapecó, SC, Brasil

⁴Universidade do Estado de Santa Catarina, Departamento de Produção Animal e Alimentos do Centro de Ciências Agroveterinárias, Avenida Luiz de Camões, 2090, 88520-000 Lages, SC, Brasil.

Seção dos Anais da Academia Brasileira de Ciências (AABC) à qual o manuscrito pertence: Ciência animal.

^{2*}Correspondence to: Centro de Educação a Distância, Avenida Madre Benvenuta, 2007, Itacorubi, 88035-901 Florianópolis, SC, Brasil. E-mail: lenita.stefani@udesc.br

Abstract

The objective was to evaluate the effects of red propolis as a feed additive for laying quails regarding performance and egg quality. A total of 120 laying quails with 52 days of age were distributed in a completely randomized design with four treatments and six replicates of five birds each. The treatments consisted of a control treatment; feed with enramycin; two levels of feed with red propolis. The results of productive performance such as percentage of egg production, feed intake per quail per day, average egg weight, egg mass, foods conversions showed no significant difference between treatments. The quails fed with red propolis in fresh eggs showed darker yolk ($P < 0.05$), with higher intensity of red and lower intensity of yellow; as less than 6.0 pH yolk; microbiological characteristics analyzed on the surface of eggs and feces of quails was lower and less than compared with other treatments. It is possible to conclude that red propolis showed promising results to be used as a feed additive for laying quails, since it maintained the productive performance of these animals and caused qualitative improvements in the physicochemical and microbiological characteristics of the eggs.

Key words: Antimicrobials, antioxidants, aqueous extract, coliforms, lipid peroxidation.

INTRODUCTION

Raising quails has become a profitable activity due to its relevant characteristics, including their resistance to heat and diseases, low requirement for housing, and also due to the fact that quail eggs and meat are nutritious and tasty, presenting themselves as an additional meat protein option for humans (Umigi et al. 2012).

Poultry farming has been using for many years some tools that have resulted in higher growth and higher yield, including the use of antibiotics as growth promoters (Pelicano et al. 2002). However, misuse of certain antimicrobials may promote the emergence of resistant bacteria (Garcia-Migura et al. 2014) and nowadays there is a search for more natural alternative additives, with similar animal performance (Zavarize et al. 2011).

Bee products appear as an alternative for antibiotics and promising food source in animal nutrition, due to their therapeutic substances (Carpes et al. 2007). Propolis is an apicultural product made with resins collected by *Apis mellifera* bees, from vegetative parts of plants or resinous exudates. In general, propolis is composed of 50% resin and balm, 30% wax, 10% essential and aromatic oils, 5% pollen and 5% various other substances (Burdock 1998; Fokt et al. 2010). Its color ranges from green, red to dark brown, and this variation is related to the geographical origin and the vegetation from which it is extracted (Salatino et al. 2011). The red propolis collected in the northeast region of Brazil has resinous exudates from the *Dalbergia ecastophyllum* plant, as a botanical source (Righi et al. 2011; Mendonça-Melo et al. 2017). It contains pterocarpanes, isoflavonoids, chalcones and phenylpropanoids (Righi et al. 2011) as main constituents. It showed cytotoxic activity against various types of cancer cells, antibacterial, antifungal, anticariogenic, antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activity (De Mendonça et al. 2015; Cavendish et al. 2015). In this context, this study aimed to evaluate whether the addition of aqueous extract of red propolis to the diet

of laying quails could improve productive performance, as well as physicochemical and microbiological quality of eggs.

MATERIALS AND METHODS

Quails, experimental design and diets

This study was approved with the norms of the Committee of Ethics for Animal Use (CEUA) from Santa Catarina State University (UDESC) under protocol number 2307170920.

The experiment was carried out at the Poultry Sector, the extraction of propolis and the analyzes were performed at the Laboratory of Molecular Biology, Immunology and Microbiology (LABMIM) both from the Animal Science Department of the Santa Catarina State University, in the city of Chapecó, Santa Catarina State, Brazil.

Japanese quails (*Coturnix japonica*, n=120), 52 day-old, housed in metal cages, fed a controlled diet, with water *ad libitum* were randomly distributed in four treatments, with six replications, with five quails per cage, totaling twenty-four experimental plots. The study lasted 63 days, divided into 3 cycles of 21 days each. The basal ration was formulated according to the nutritional values and requirements established in the Brazilian Table of Poultry and Swine (Rostagno et al. 2017), with 2,750 Kcal of metabolizable energy per kg of ration and 19.9% of protein (Table I). The treatments were: control treatment (CT): basal diet without antimicrobials and without red propolis; enramycin treatment (TE): 10 mg/kg of feed; red propolis (RP1): 1 g of red propolis/kg of feed and red propolis (RP2): 2 g of red propolis/kg of feed. The red propolis aqueous extract was mixed with the microingredients and later added to the vertical mixer. The lighting program used for the quails was 16 hours of light per day.

Red propolis aqueous extract

Red propolis was purchased from a commercial company located in the city of Canavieiras, Bahia State, Brazil. The extraction was performed according to the methodology adapted from Kubiliene et al. (2015), with the maceration of crude propolis with pistil and liquid nitrogen, inside a mortar until it becomes powder. In a beaker, 100 mL of distilled water, 10 grams of propolis and 20 grams of polyethylene glycol (PEG 400 PA) were added and the mixture was subjected to high pressure at 120°C for 5 minutes in an autoclave. After extraction, the extract was stored protected from light. The extract was homogenized and weighed for subsequent mixing with the feed.

Performance parameters

Daily quail mortality was observed and recorded in order to calculate animal viability, as well as feed intake per quail (g/bird/day). The number of eggs produced was recorded daily and the average production per quail was estimated, in addition to egg mass (g/bird/day). Feed conversion was evaluated by kg of feed consumed per kg of eggs produced and also per kg of dozens of eggs. Eggs were weighed in the last five days of each experimental period and the average egg weight was determined.

Parameters in fresh eggs

To assess egg quality, a sample consisting of two eggs from each experimental plot was collected and analyzed. Specific gravity was determined according to Barbosa et al. (2008). Texture analyzer equipment was used to measure egg shell strength and results were expressed as kgf. After breaking the eggs the following parameters were evaluated: height of the dense albumen measured with a tripod micrometer; Haugh unit (HU) according to Haugh (1937); yolk index, which was calculated by the ratio between the height and diameter of the

yolk (mm), obtained with the micrometer and the caliper, respectively; yolk color was determined with the colorimetric fan (DSM) and with the colorimeter (Minolta CR-400), where the following universal colorimetric coordinates were observed: luminosity (L*), red intensity (a*) and yellow intensity (B*); the shell weight and percentages of shell, yolk and albumen; egg shell thickness was obtained with a caliper at three points and obtaining the arithmetic mean of the three measurements. The pH of the yolk and the albumen were measured with the digital phmeter (Testo 205).

Parameters in stored eggs

The eggs were weighed on a precision scale and stored under temperature and air humidity registered conditions. Twice per day, the temperature, maximum, minimum and the air humidity, maximum, minimum at the room storage were registered, during 21 days. After this period, the eggs were weighed where the weight loss after storage was calculated. The levels of lipid peroxidation in the yolk of these eggs were determined according to Giampietro et al. (2008), with the measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), which are formed during the decomposition of lipid peroxides. Compound 1,1,3,3 tetramethoxypropane (TMP) was used as TBARS standard. The results were expressed in mg TMP/kg of yolk.

Microbiological analysis

Microbiological analysis were performed on the surface of eggs produced at the end of the second and third cycles. Each sample consisted of a group of five eggs per repetition. Egg surfaces were washed with peptone water according to the methodology adapted from Gentry & Quarles (1972). Quail feces samples, collected from four points of each experimental plot, were analyzed. Egg and feces samples were sown on Plate Count Agar (PCA) for total

mesophilic aerobics and on Petrifilm® 6404 (3M) plates for total coliforms and *Escherichia coli*. Incubation was carried out at 37 °C for 48 hours and the number of bacterial colonies present were expressed in colony-forming units per mL (CFU/mL).

Statistical analysis

Data were submitted to analysis of variance and means compared by Tukey test at 5% significance level (in cases of significant differences). These statistical procedures were performed by the program Statistical Analysis System.

RESULTS AND DISCUSSION

Productive performance

Egg production, feed intake, average egg weight, egg mass, feed conversion (kg/kg and kg/dz) are shown in Table II. No significant differences were observed in these variables compared to the control treatment ($P>0.05$). The results show that the red propolis aqueous extract did not influence the productive performance of the quails. Our findings are similar to those of Zeweil et al. (2016) while studying the effect of propolis extract (250 and 500 mg/kg) in the diet of Japanese quails, observed that the inclusion of propolis neither influence performance (body weight, laying rate, egg weight and egg mass) nor egg quality (egg weight, yolk and albumen percentage, albumen height, shell percentage and thickness, specific gravity and yolk color). Petrolli et al. (2014) using residue of green propolis extract, at the level of 1%, for broilers, also found no difference ($P>0.05$) for feed intake and feed conversion in the period from 1 to 21 days of age.

Propolis can increase the beneficial microbiota and control pathogenic bacteria (Kacániová et al. 2012). The change in the dynamics of the intestinal microbiota is generally attributed to flavonoids, which have antibacterial activity and are present in the ethanol

extract of propolis (Oldoni et al. 2011; Bueno-Silva et al. 2013; Frozza et al. 2013). Different results might be obtained between studies due to the variability and complexity of the composition of propolis, which changes according to the flora of each location, genetics of queen bees and even the time of year in which its collection was done (Buriol et al. 2009). Another hypothesis that the addition of propolis did not show any difference in the analyzed variables may have been the fact that the breeding environment did not propose a sanitary challenge that would enable a more expressive response with the use of propolis. Since the birds did not have direct contact with the feces, as they were raised in cages with feces collecting trays, they were raised at an ideal density to develop their full potential (Albino & Barreto, 2003).

Moreover, herbal medicines (propolis), probiotics, symbiotics and organic acids are classified as performance-enhancing additives (Brasil, 2004) and it is notorious how these additives cannot express positive results due to the lack of sanitary challenge in poultry studies, in different experimental variables (Silva et al. 2012; Bueno et al. 2012; Bastos-Leite et al. 2016). Because, good prophylactic conditions for raising animals and a minimum of stress (which is usually associated with nutritional, environmental or behavioral factors), do not present a sufficient increase in bacteria to cause an imbalance in intestinal health, compromising productive performance (Fukayama et al. 2005).

It is known that red propolis aqueous extract has great potential to be used as a herbal additive in poultry feed, as red propolis has biologically active compounds (vestitol and neovestitol and biochanin A, liquiritigenin, formononetin and medicarpine) found only in this type of propolis. Trusheva et al. (2006) concluded the identification of new propolis constituents in red Brazilian propolis, most of them having antibacterial, antimycotic and antiradical activities, is a further confirmation of the fact that propolis, independently of its plant source and chemical composition, present antimicrobial and antioxidant activity. Its

result that propolis plays in the hive: it is the ‘chemical weapon’ of bees against pathogen microorganisms and the elements of weather. However, in different propolis types, different chemical constituents are responsible for the valuable activities (Bankova et al. 2005). Furthermore, as can be seen in this experiment, the inclusion of red propolis aqueous extract in the diet of the quails did not cause any negative effects such as mortality or on other studied variables and could be evaluated at different concentrations and with diets free of synthetic antimicrobials. Another study using very high dosage of red propolis in order to address its safety found that red propolis was unable to cause side effects (Reis et al. 2000). Berretta et al. (2017) also reported future perspectives for propolis in the health of the population and in the Brazilian and international market, especially because of its important biological activities and safety.

Feeding the quails with 1g of red propolis aqueous extract showed the best feed conversion (kg of feed/kg of eggs), of 2.54 kg, although the difference was not statistically significant compared to the other treatments. Marieke et al. (2005) stated the improvement in feed, conversion rate could be due to the ability of propolis to improve nutrient digestibility and absorption as a result of sucrase, amylase and phosphatase activities.

Quality of fresh eggs

A significant difference ($P < 0.05$) was observed in the results of the eggs analyzed in the following parameters: luminosity (L^*), red intensity (a^*), yellow intensity (b^*) and yolk pH. In the other analyzed parameters: shell strength, specific gravity, Haugh unit, yolk index, colorimetric fan, yolk percentage, shell percentage, albumen percentage, shell thickness and albumen pH, no statistical difference were observed (Table III).

In summary, the yolk color of the eggs of quails fed with red propolis was darker, with greater intensity of red and lower intensity of yellow when compared to the control treatment,

i.e., the eggs of quails fed diet without any additive had yolks of lighter color. Yolk color, as a sensory attribute, is considered an indicator of quality, and plays an important role in the acceptance of the egg by consumers, who associate the intense pigmentation of the yolk with higher nutritional value of the egg (Silva et al. 2000; Tocchini & Mercadante, 2001). Yolk color intensity is determined by the incorporation of xanthophylls (a group of carotenoid pigments) present in corn, particularly lutein and zeaxanthin, and depends on the levels of inclusion in the diet. However, other foods can change yolk color depending on their level of inclusion (Silva et al. 2000).

Lee et al. (2001) stated that changes in yolk color can be observed when supplemental sources of carotenoids are added to the diet since carotenoid pigments are fat-soluble and therefore absorbed in the intestine along with the lipids. Reports also indicate that the inclusion of antioxidants in diets rich in unsaturated fatty acids, which are susceptible to oxidation, improves yolk pigmentation. In addition, Faitarone et al. (2016) stated that when dietary lipids produce peroxides, yolk pigmentation can be negatively affected due to the oxidation of carotenoids. The discoloration (oxidation) of carotene is induced by the oxidative degradation products of linoleic acid (Kumazawa et al. 2003).

Berretta et al. (2017) stated that the antioxidant property of propolis is one of the most studied biological activities worldwide. During analyzes of Brazilian propolis, Wang et al. (2004) observed a strong inhibition of lipid peroxidation using rat liver homogenate at a concentration of 2 mg/mL, and this activity was related to the presence of flavonoids. However, it is known that, in addition to phenolic compounds, flavonoids are involved in the antioxidant activity of propolis. Thus, a number of phenolic compounds, including flavonoids, were evaluated against linoleic acid peroxidation in micellar solution. The results showed that polyphenols in general have greater activity than BHT (butylated hydroxytoluene), a well-known antioxidant (Bankosta et al. 2001). In a study using cell culture, artepillin C was

proposed as a strong candidate responsible for the antilipoperoxidative activity of Brazilian propolis (Shimizu et al. 2004).

The pH of the yolk of fresh eggs is usually around 6.0 and was significantly lower in the red propolis treatments compared to the control group. According to Sarcinelli et al. (2007) there is an increase in pH and connections between the molecules that make up the yolk membrane that surrounds the yolk loses selectivity and the water moves from the albumen to the yolk, increasing the size of the membrane that has already found fragile and thus, stretching it. Alkaline ions from the albumen can be exchanged with H⁺ ions present in the yolk with an increase in yolk pH. This pH variation could induce protein denaturation and increase yolk consistency (Shang et al. 2004).

Egg quality after storage

In the storage room the average temperatures registered were 22.1°C with maximum 25.2°C and minimum 18.7°C and the average of the relative humidity of the air registered were 62.5% with maximum 71% and minimum 40%. Under these conditions, the lowest weight loss of eggs stored after 21 days was obtained in the group submitted to red propolis 1g and no significant differences ($P>0.05$) were observed in these variables compared to the control and enramycin treatment (Table IV). The lowest levels of lipid peroxidation were in the egg yolks of quails subjected to treatment with enramycin and red propolis 1g, although it was not observed any significant difference ($P>0.05$) between birds fed with the control treatment and with the two levels of red propolis.

Cabral et al. (2009) compared the antioxidant potential of different fractions obtained from a hydroethanolic extract of red propolis, through DPPH radical scavenging methods and oxidation inhibition of the β -carotene/linoleic acid system. The first method showed that the hexane fraction showed greater antioxidant activity (74.4%), while in the second method the

chloroform fraction showed greater activity (64.8%). The study concluded that there is a greater correlation between the content of phenolic compounds and antioxidant activity by the oxidation of the β -carotene/linoleic acid system.

According to Righi et al. (2011), active compounds such as isoflavones and chalcones have greater affinity for the organic phase. In a later study, the following compounds were isolated from the chloroform fraction: two isoflavonoids (vestitol and neovestitol) and a chalcone (isoliquiritigenin). Among these compounds, vestitol showed greater antioxidant activity compared to the others, through the β -carotene/linoleic acid model (Oldoni et al. 2011). Frozza et al. (2013) analyzed a hydroethanolic extract of red propolis and obtained strong enzymatic activity such as superoxide desmutase (SOD) and catalase (CAT), which are important in oxidative stress.

Microbiological Analysis

At the end of the third experimental cycle, a difference was observed in colony forming units (CFU) of total count of mesophilic aerobics on the surface of fresh and stored eggs compared to the second cycle (Table V). Considering 100% presence of colonies in the second cycle, there was a representative decrease of colonies on the surface of the eggs of the group red propolis 1g at the end of the third cycle and in the stored eggs.

A significant decrease was observed in the presence of CFU of mesophilic aerobics in the fecal samples of quails submitted to four different treatments throughout the experiment (Table VI). Considering 100% presence of colonies in the first cycle, there was a decrease in CFU in the analyzed feces. The count of total coliforms in the feces of quails submitted to different treatments at the end of the first cycle showed the presence of CFU (Table VII). The highest amount of CFU/mL was observed in the enramycin group and the lowest counts of CFU in the feces of the quails in the red propolis 1g group, i.e. 83.18% less when compared to

the enramycin group. There were 70% fewer *Escherichia coli* colonies in the red propolis 1g group when compared to the enramycin group.

Bueno-Silva et al. (2016) analyzed Brazilian red propolis, whose primary plant source was *Dalbergia ecastophyllum*. They studied the effect of the propolis collection period, its chemical composition and antibacterial activity. Seasonal variability was observed between the concentration of vestitol, neovestitol and isoliquiritigenin. The highest content of these ingredients and the antibacterial activity were recorded during the rainy season (period from January to May).

In terms of antibacterial activity, the content of substances such as flavonoids and phenolic compounds is important (Inui et al. 2014; Górnjak et al. 2019). However, depending on the solvent used, different biological activities are found (Przybyłek & Karpiski, 2019). Kubiliene et al. (2015) compared the composition and biological activities of propolis extracts prepared with an alternative non-alcoholic solvent mixture such as polyethylene glycol (PEG 400 PA), water and olive oil and concluded that propolis extraction with non-alcoholic solvents and the effects the high temperatures allow the most effective extraction of active compounds from propolis and that the non-ethanolic extracts of propolis have anti-radical and antimicrobial action. More studies should be developed by this research group in order to compare different extraction methods.

CONCLUSIONS

In summary, it can be concluded that the red propolis aqueous extract used as a feed additive in the diet of laying quails resulted in eggs with darker yolks, a desired characteristic for consumers, in addition to yolks with pH 6.0 which could impact shelf life. Moreover, red propolis 1g group showed antimicrobial action, caused lower weight loss in eggs stored for 21 days and lower lipid peroxidation in the yolk, indicating a potent antioxidant action, without

affecting quail productive performance. In general, it is concluded that supplementing quails diet with red propolis 1g group can be an useful alternative to antibiotics in order to maintain the productive performance of quails, and improve physicochemical and microbiological quality of the eggs.

Acknowledgments

The authors are grateful for the financial support: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC).

Author contributions

Patricia R. A. L. Garcia - project executor, manager and writer of the original research manuscript. Lenita de C. M. Stefani, Marcel M. Boiago, Denise N. Araujo - project advisors and supervisors, manuscript editors and reviewers. Arieli Z. França, Bruno M. Sponchiado, Daniela T. Nesi, Guilherme L. Deolindo, Maiara Rampazzo, Marcos J. Migliorini, Paulo V. de O. Junior – performed the experiments. The authors declare that they no have conflicts of interest.

REFERENCES

ALBINO LFT, BARRETO SLT. 2003. Criação de codornas para produção de ovos e carnes. 1º ed. Viçosa. Aprenda Fácil, Viçosa 289 p.

ANDREOTTI R, NICODEMO MLF. 2004. Uso de Antimicrobianos na produção de bovinos e desenvolvimento de resistência. Embrapa Gado de Corte, n. 144: 50 p.

BANKOSTA AH, TEZUKA Y, KADOTA S. 2001. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res* 15: 561–571.

BANKOVA V, CHRISTOV R, POPOV S, MARCUCCI MC, TSVETKOVA I, KUJUMGIEV A. 1999. Antibacterial activity of essential oils from Brazilian propolis. *Fitoterapia* 70: 190-193.

BANKOVA V. 2005. Recent trends and important developments in propolis research. *Evid Based Complement Alternat Med* 2: 29-32.

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

BASTOS-LEITE SC, ALVES EHA, DE SOUSA AM, GOULART CDEC, DOS SANTOS JPM, SILVA JDB. 2016. Ácidos orgânicos e óleos essenciais sobre o desempenho, biometria de órgãos digestivos e reprodutivos de frangas de reposição. *Acta Vet Brasilica* 10: 201-207

BERRETTA AA ET AL. 2017. Functional properties of Brazilian propolis: from chemical composition until the market. *Superfood and Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization* – Intech, chapter 4: 55-99.

BRASIL. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos para Produtos Destinados à Alimentação Animal. Brasília, DF: Presidência da República, 2004. Available in: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=133040692>. Access in: 21 sep 2021.

BUENO R, ALBUQUERQUE R, DE MURAROLLI VDA, HERNANDEZ AYA LA, RAPOSO RDAS, BORDIN RDA. 2012. Efeito da influência de probiótico sobre a morfologia intestinal de codornas japonesas. *Braz J Vet Res Anim Sci* 49: 111-115.

BUENO-SILVA B, ALENCAR SM, KOO H, IKEGAKI M, SILVA GJVJ, NAPIMOGA MH, ROSALEN PL. 2013. Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovestitol and vestitol isolated from Brazilian red propolis. *J Agric Food Chem* 61: 4546-50.

BUENO-SILVA B, MARSOLA A, IKEGAKI M, ALENCAR SM, ROSALEN PL. 2016. The effect of seasons on Brazilian RP and its botanical source: chemical composition and antibacterial activity. *Natl Prod Res* 31: 1318-1324.

BURDOCK GA. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* 36: 347-363.

BURIOL L, FINGER D, SCHMIDT EM, DOS SANTOS JMT, DA ROSA MR, QUINÁIA SP, TORRES YR. 2009. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. *Quím Nova* 32: 296-302.

CABRAL ISR, OLDONI TLC, PRADO A, BEZERRA RMN, DE ALENCAR SM, IKEGAKI M, ROSALEN PL. 2009. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. *Quím Nova* 32: 1523-1527.

CARPES ST, BEGNINI R, ALENCAR SM, MASSON ML. 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciência e Agrotecnologia* 31: 1818-1825.

CAVENDISH RL ET AL. 2015. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Brazilian red propolis extract and formononetin in rodents. *J Ethnopharmacol* 173: 127-133.

DE MENDONÇA ICG ET AL. 2015. Brazilian red propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *BMC Complement Altern Med* 15: 357.

FAITARONE ABG, GARCIA EA, ROÇA RO, ANDRADE EM, VERCESE F, PELÍCIA K. 2016. Yolk color and lipid oxidation of the eggs of commercial white layers fed diets supplemented with vegetable oils. *Braz J Poultry Sci* 18: 9-16.

FOKT H, PEREIRA A, FERREIRA AM, CUNHA A, AGUIAR C. 2010. How do bees prevent hive infections? The antimicrobial properties of propolis. *Current Research*,

Technology and Education. Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology 1: 481–493.

FROZZA CODS ET AL. 2013. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of brazilian red propolis. Food Chem Toxicol 52: 137-142.

FUKAYAMA EH, BERTECHINI AG, GERALDO A, KATO RK, MURGAS LDS. 2005. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. R Bras Zootec 34: 2316-2326.

GARCIA-MIGURA L, HENDRIKSEN RS, FRAILE L, AARESTRUP FM. 2014. Antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in Europe: the missing link between consumption and resistance in veterinary medicine. Vet Microbiol 170: 1-9.

GENTRY RF, QUARLES CL. 1972. The measurement of bacterial contamination on egg shells. Poult Sci 51: 930-933.

GIAMPIETRO A, SCATOLINI AM, BOIAGO MM. 2008. Estudo da metodologia de TBARS em ovos. Revista Avisite 13: 18.

GÓRNIAK I, BARTOSZEWSKI R, KRÓLICZEWSKI J. 2019. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. Phytochem Rev 18: 241–272.

INUI S, HATANO A, YOSHINO M, HOSOYA T, SHIMAMURA Y, MASUDA S, AHN MR, TAZAWA S, ARAKI Y, KUMAZAWA S. 2014. Identification of the phenolic

compounds contributing to antibacterial activity in ethanol extracts of Brazilian red propolis.

Nat Prod Res 28: 1293–1296.

KACÁNIOVÁ M, ROVNÁ K, ARPÁŠOVÁ H, CUBOŇ J, HLEBA L, POCHOP J, KUNOVÁ S, HAŠČÍK P. 2012. In vitro and in vivo antimicrobial activity of propolis on the microbiota from gastrointestinal tract of chickens. J Environ Sci Health 47: 1665-1671

KEDZIA B, HOŁDERNA-KEDZIA E. 2013. The antibiotic activity of native and European propolis. Postępy Fitoterapii 2: 97-107.

KUBILIENE L, LAUGALIENE V, PAVILONIS A, MARUSKA A, MAJIENE D, BARCAUSKAITE K, KUNILUS R, KASPARAVICIENE G, SAVICKAS A. 2015. Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. BMC Complement Alter Med 15: 1-7.

KUMAZAWA S, YONEDA M, SHIBATA I, KANAEDA J, HAMASAKA T, NAKAYAMA T. 2003. Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. Chem Pharm Bull 51: 740-742.

LEE BD, KIM DJ, LEE SJ. 2001. Nutritive and economic values of high oil corn in layer diet. Poult Sci 80: 1527-1534.

MARIEKE M, BLITTERSWIJK H, LEVEN L, KERKVLJET J, WAERD J. 2005. Bee products (properties, processing and marketing). Nectar, Netherlands Expertise Centre for (sub) Trop Apic Resources 42: 33- 35.

MENDONÇA-MELO L, MOTA E, LOPEZ B, SAWAYA A, FREITAS L, JAIN S, BATISTA M, ARAÚJO E. 2017. Chemical and genetic similarity between *Dalbergia ecastaphyllum* and red propolis from the Northeastern Brazil. J Apic Res 56: 1-8.

OLDONI TLC, CABRAL ISR, D'ARCEA MABR, ROSALEN PL, IKEGAKI M, NASCIMENTO AM, ALENCAR SM. 2011. Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. Sep Purif Technol 77: 208-213.

PELICANO ERL, SOUZA PA, SOUZA HBA. 2002. Prebióticos e probióticos na nutrição de aves. Ciênc Agrár Saúde 2(1): 59-64.

PETROLI TG, DEMEDA L, ZOTTI CA, PALHANO J, SIMIONATTO AT. 2014. Utilização do resíduo do extrato de própolis verde como promotor de crescimento para frangos de corte. Enciclopédia Biosfera 10: 1859-1868

PRZYBYŁEK I, KARPINSKI TM. 2019. Antibacterial properties of propolis. Molecules 24: 2047.

REIS CM, CARVALHO JCT, CAPUTO LRG. 2000. Anti-inflammatory and antiulcer activity and subchronic toxicity of propolis ethanolic extract. R Bras Farmacogn 10: 43-49.

RIGHI AA, ALVES TR, NEGRI G, MARQUES LM, BREYER H, SALATINO A. 2011. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. *J Sci Food Agric* 91: 2363-70.

ROSTAGNO HS ET AL. 2017. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Tabelas brasileiras para aves e suínos, 4ª ed., Universidade Federal de Viçosa (MG): 488 p.

SALATINO A, FERNANDES-SILVA CC, RIGHI AA, SALATINO MLF. 2011. Propolis research and the chemistry of plant products. *Nat Prod Res* 28: 925–936.

SARCINELLI MF, VENTURINI KS, SILVA LC. 2007. Características dos ovos. Universidade Federal do Espírito Santo - UFES. Boletim Técnico - PIE-UFES: 00707. Available in: http://www.agais.com/telomc/b00707_caracteristicas_ovos.pdf. Accessed in: 02/09/2021.

SHANG XG, WANG FL, LI DF, YIN JD, LI JY. 2004. Effects of dietary conjugated linoleic acid on the productivity of laying hens and egg quality during refrigerated storage. *Poultry Science* 83(10): 1688-1695.

SILVA JDT, MATOS ADAS, HADA FH, GRAVENA RA, MARQUES RH, MORAES VMB. 2012. Simbiótico e extratos naturais na dieta de codornas japonesas na fase de postura. *Cienc Anim Bras* 13: 1-7.

SILVA JHV, ALBINO LFT, GODOI MJS. 2000. Efeito do extrato de urucum na pigmentação da gema dos ovos. *R Bras Zootec* 29: 1435-1439.

SHIMIZU K, ASHIDA H, MATSUURA Y, KANAZAWA K. 2004. Antioxidative bioavailability of artemillin C in Brazilian propolis. *Arch Biochem Biophys* 424: 181-188.

TOCCHINI L, MERCADANTE AZ. 2001. Extração e determinação, por CLAE, de bixina e norbixina em coloríficos. *Ciênc Tecnol Aliment* 21: 310-313.

TRUSHEVA B, POPOVA M, BANKOVA V, SIMOVA S, MARCUCCI MC, MIORIN PL, PASIN FR, TSVETKOVA I. 2006. Bioactive Constituents of Brazilian Red Propolis. Oxford University Press. 3: 249-254.

UMIGI RT, BARRETO SLT, REIS RS, MESQUITA FILHO RM, ARAÚJO MS. 2012. Níveis de treonina digestível para codorna japonesa na fase de produção. *Arq Bras Med Vet Zootec* 64: 658-664.

WANG BJ, LIEN YH, YU ZR. 2004. Supercritical fluid extractive fractionation - study of the antioxidant activities of propolis. *Food Chem* 86: 237-243.

ZAVARIZE KC, SARTORI JRA, PELÍCIA VCB, PEZZATO ACC, ARAUJO PCD, STRADIOTTI ACE, MADEIRA LA. 2011. Glutamina e nucleotídeos na dieta de frangos de corte criados no sistema alternativo. *Arch Zootec* 60: 913-920.

ZEWEIL HS, ZAHRAN SM, ABD EL-RAHMAN MHA, DOSOKY WM, ABU HAFSA H, MOKTAR AA. 2016. Effect of using bee propolis as natural supplement on productive and physiological performance of japanese quail. *Egypt Poult Sci J* 36: 161-175.

Table I. Ingredient and nutrient composition of basal diet.

Ingredients (%)	Quantity
Corn	58.7
Soybean meal	31.7
Soybean oil	0.18
Dicalcium phosphate	1.22
Calcium Carbonate	6.84
Sodium chloride (NaCl)	0.34
DL-Methionine (99%)	0.38
Lysine	0.24
Vitamin-mineral premix*	0.20
Nutrient composition (%)	Quantity
Crude Protein	19.9
Metabolizable energy (kcal/kg)	2.75
Calcium	3.00
Available Phosphorus	0.32
Digestible Lysine	1.11
Digestible Methionine	0.66
Methionine + digestible cysteine	0.98

***Product composition (kg): vitamin (vit.) A 5,000,000 IU; vit. D3 1,000,000 IU; vit. E 15,000 IU; vit. K3 1500 mg; vit. B1 1500 mg; vit. B2 3000 mg; vit. B6 2000 mg; vit. B12 7000 µg; folic acid 500 mg; nicotinic acid 15 g; pantothenic acid 7000 µg; choline 80 g; biotin 100 mg; Cu 10 g; Fe 50 g; I 1000 mg; Mn 80 g; Selenium 300 mg; Zn 70g.**

Table II. Effects of red propolis feed supplementation on the productive performance of quails.

Parameters	CT	TE	RP1	RP2	P-Value
Egg production	95.83	94.72	94.30	92.73	0.63
Feed consumption	27.29	26.54	26.50	26.09	0.32
Average egg weight	11.09	10.88	11.08	10.93	0.43
Eggs mass	10.65	10.34	10.47	10.16	0.45
Feed conversion (Kg/Kg)	2.56	2.58	2.54	2.58	0.78
Feed conversion (Kg/dz)	0.34	0.33	0.33	0.33	0.83
Viability	100	100	100	100	-

CT: control treatment; TE: enramycin treatment; RP1: treatment with red propolis (1g/kg of feed); RP2: treatment with red propolis (2g/kg of feed). Feed conversion (kg/kg): kg of feed consumed per kg of produced egg; Feed conversion (kg/dz): kg of feed per dozen eggs produced. P-Value: P<0.05 indicating significance level by Tukey test at 95% confidence.

Table III. Effects of red propolis supplementation on quail egg quality.

Parameter	CT	TE	RP1	RP2	P-Value
Eggshell strength	1,424.17	1,444.22	1,424.70	1,464.90	0.99
Specific gravity	1.064	1.067	1.067	1.067	0.64
Haugh unit	87.82	85.99	85.56	86.29	0.16
Yolk index	0.4708	0.4558	0.4775	0.4642	0.13
Colorimetric fan	5.75	5.96	5.92	5.69	0.86
Luminosity (L*)	65.629a	60.881b	59.428b	57.11b	<0.0001
Intensity of red (a*)	-9.96a	-9.33ab	-8.072b	-7.92b	0.0095
Intensity of yellow (b*)	53.76a	49.07b	46.93b	46.43b	<0.0001
Yolk %	31.49	31.86	32.12	32.63	0.69
Shell %	8.59	8.71	8.60	8.50	0.95
Albumen %	59.93	59.42	59.27	58.86	0.69
Shell thickness	0.17	0.18	0.18	0.19	0.10
Yolk pH	6.21a	6.05ab	5.88b	5.90b	0.0125
Albumen pH	8.58	8.59	8.59	8.60	0.90

CT: control treatment; TE: enramycin treatment; RP1: treatment with red propolis

(1g/kg of feed); RP2: treatment with red propolis (2g/kg of feed). P-Value: P < 0.05

indicating significance level by Tukey test at 95% confidence. Means followed by

different letters on the same line indicate a difference by Tukey's test at 5% significance

(P < 0.05).

Table IV. Effects of red propolis supplementation for quails on egg weight and lipid peroxidation levels after 21 days of storage.

Parameter	CT	TE	RP1	RP2	P-Value
AWL (g)	3.93ab	4.01ab	3.74b	4.14a	0.012
TBARS	0.32a	0.07b	0.12ab	0.29a	0.007

CT: control treatment; TE: enramycin treatment; RP1: treatment with red propolis (1g/kg of feed); RP2: treatment with red propolis (2g/kg of feed). AWL = average weight loss, P-Value: P<0.05 indicating significance level by Tukey test at 95% confidence. Means followed by different letters on the same line indicate a difference by Tukey's test at 5% significance (P<0.05).

Table V. Effects of red propolis on total count of mesophilic aerobics on the surface of quail eggs.

Treatment	Second cycle		Third cycle		Stored	
	CFU/mL	(%)	CFU/mL	(%)	CFU/mL	(%)
TC	29	100	12	41.38	29	100.00
TE	12	100	10	83.33	4	33.33
RP1	42	100	4	9.50	4	9.52
RP2	3	100	2	66.66	8	266.67

TC: control treatment; TE: enramycin treatment; RP1: treatment with propolis (1g/kg of feed); RP2: treatment with propolis (2g/kg of feed). (%): percentage of colony presence considering 100% presence in the second cycle. CFU/mL: colony forming units per mL of sample.

Table VI. Effects of red propolis on the total mesophilic aerobic counts in quail feces.

Treatment	First cycle		Second cycle		Third cycle	
	CFU/mL	(%)	CFU/mL	(%)	CFU/mL	(%)
CT	136	100	2	1.47	9	6.61
TE	92	100	0	0	8	8.69
RP1	48	100	0	0	20	41.66
RP2	338	100	2	0.59	4	1.18

CT: control treatment; TE: enramycin treatment; RP1: treatment with propolis 1g/kg of feed; RP2: treatment with propolis 2g/kg of feed. (%): percentage of colony presence considering 100% presence in the first cycle. CFU/mL: colony forming units per mL of sample.

Table VII. Counts of total and fecal coliforms in quail feces after the first cycle.

Treatment	TC (CFU/mL)	EC (CFU/mL)
CT	105	70
TE	327	110
RP1	55	33
RP2	196	102

CT: control treatment; TE: enramycin treatment; RP1: treatment with propolis 1g/kg of feed; RP2: treatment with propolis 2g/kg of feed. TC: total coliforms; EC: *Escherichia coli*; CFU/mL: colony forming units per mL.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em síntese, pode-se concluir que a própolis vermelha utilizada como aditivo nutricional na ração de codornas poedeiras resultou em ovos com gemas mais escuras, com maior intensidade de vermelho e menor intensidade de amarelo, bem como o pH menor que 6,0. Além disso, a PV apresentou ação antimicrobiana e menor perda de peso dos ovos armazenados por 21 dias (PV1) e a menor peroxidação lipídica na gema destes ovos. Não foi observada diferença estatística significativa no desempenho produtivo das codornas submetidas aos quatro diferentes tratamentos. Uma análise global levou à conclusão de que a suplementação da dieta com 1g de própolis vermelha por kg de ração pode ser uma alternativa útil para manter o desempenho produtivo das codornas, a qualidade físico-química e microbiológica dos ovos produzidos, com chances de maior vida útil deste produto.

REFERÊNCIAS

AHN, M.; KUMAZAWA, S.; USUI, Y.; NAKAMURA, J.; MATSUKA, M.; ZHU, F.; NAKAYAMA, T. **Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various áreas of China.** Food Chemistry. 101: 1400-1409, 2007.

ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S. L. T. **Criação de codornas para produção de ovos e carnes.** 1. ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 289 p.

ALBINO, L. F. T.; CARVALHO, B. R.; MAIA, R. C.; BARROS, V.R.S.M. **Galinhas Poedeiras Criação e Alimentação.** 1. ed. Aprenda Fácil, 2014. 376 p.

ALENCAR, S.M.; OLDONI, T.L.C.; CASTRO, M.L.; CABRAL, I.S.R.; COSTA-NETO, C.M.; CURY, J.A. **Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis:** Red propolis. Journal of Ethnopharmacology. 113: 278-283, 2007.

BARBER, A.D., HARRIS, S.R. **Oxygen free radicals and oxidants:** a review. Amer. Pharm. v.34, n.9, p.26-35, 1994.

BARBOSA, M.H.; ZUFFI, F.B.; MARUXO, H.B.; JORGE, L.L.R. **Ação terapêutica da própolis em lesões cutâneas.** Acta Paulista de Enfermagem. v.22, n.3, p.318-22, 2009.

BARBOSA, N.A.A., SAKOMURA, N.K., MENDONÇA, M.O., FREITAS, E.R, FERNANDES, J.B.K. **Qualidade de ovos comerciais provenientes de poedeiras comerciais armazenados sob diferentes tempos e condições de ambientes.** ARS Veterinária. 24(2):127-133, 2008.

BARRETO, S.C.S.; ZAPATA, J.F.F.; FREITAS, E.R.; FUENTES, M.F.F.; NASCIMENTO, R.F.; ARAUJO, R.S.R.M; AMORIM, A.G.N. **Ácidos graxos da gema e composição do ovo de poedeiras alimentadas com rações com farelo de coco.** Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília. v. 41, n. 12, p. 1767-1773, 2006.

BARRETO, S.L.T.; ARAUJO, M.S.; UMIGI, R.T; MOURA, W. C. O.; COSTA, C. H. R.; SOUSA, M. F. **Níveis de sódio em dietas para codorna japonesa em pico de postura.** Revista Brasileira de Zootecnia. v.36, p.1559-1565, 2007.

BENAVENTE-GARCIA, O.; CASTILLO, J.; LORENTE, J.; ORTUÑO, A.; DEL RIO, J.A. **Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L. leaves.** Food Chemistry. v.68, p. 457-462, 1999.

BENZIE, I.F.F, STRAIN, J.J. **The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”**: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. v.239, n.1, p.70-76,1996.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000**. Anexo VI – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Brasília, DF: Presidência da República, 2000. Disponível em: https://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Mel-completo-IN-11_2000.pdf. Acesso em: 21 set. 2021.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004**. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos para Produtos Destinados à Alimentação Animal. Brasília, DF: Presidência da República, 2004. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=133040692>. Acesso em: 21 set. 2021.

BRASIL. **Relatório Técnico - Portaria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento nº 40, de 08 de janeiro de 2006**. Brasília, DF: Presidência da República, 2009. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/arquivos-de-insumos-pecuarios/RelatorioTecnicoGTII31_07_06.doc. Acesso em: 2 set. 2021.

BRESSAN, M. C.; ROSA, F. C. **Processamento e industrialização de ovos de codorna**. In: Simpósio Internacional de Coturnicultura Novos Conceitos Aplicados a Produção de Codornas, Lavras, MG. Anais. p. 85-95. 2002.

BRUXEL, T. M. M. O. **Exigência de energia metabolizável e lisina digestível para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*)**. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, 99 f. 2016.

CASTALDO, S.; CAPASSO, F. **Propolis an old remedy used in modern medicine**. *Fitoterapia*, v. 73, p.1-6, 2002.

CORDEIRO, L. A. M.; VILELA, L.; MARCHÃO, R.L.; KLUTHCOUSKI, J.; MARTHA JUNIOR, G. B. **Integração lavoura-pecuária e floresta: estratégias para intensificação sustentável do uso do solo**. *Cadernos de Ciência e Tecnologia*, v.32, n.1/2, p.15-53, 2015.

CHOI, Y.M.; NOH, D.O.; CHO, S.Y.; SUH, H.J.; KIM, K.M.; KIM, J.M. **Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea**. *LWT-Food Science and Technology*, v. 39, p.756-761. 2006.

DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. **Radicais livres, estresse oxidativo e diabete.** Diabetes Clínica, São Paulo, v. 5, n. 5, p. 355-361, 2002.

DA SILVA, J.F.M.; SOUZA, M.C.; MATTA, S.R.; ANDRADE, M.R.; VIDAL, F.V.N. **Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities.** Food Chemistry, v. 99: p. 431-435, 2006.

DAUGSCH, A., MORAES, C.S., FORT, P., PARK, Y.K. **Brazilian red propolis - Chemical composition and botanical origin.** Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, v. 5, p. 435– 441; 2008.

DENLI, M., CANKAYA, S., SILICI, S., OKAN, F., ULUOCAK, A.N. **Effect of Dietary Addition of Turkish Propolis on the Growth Performance, Carcass Characteristics and Serum Variables of Quail (*Coturnix Coturnix Japonica*).** Asian Australasian Journal of Animal Science, v.18, n. 6,p. 848-854, 2005.

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

FAITARONE, A.B.G.; GARCIA, E.A.; ROÇA, R.O.; ANDRADE, E.N.; VERCESE, F.; PELÍCIA, K. **Yolk color and lipid oxidation of the eggs of commercial white layers fed diets supplemented with vegetable oils.** Brazilian Journal of Poultry Science, v.18, n.1, p. 9-16, 2016.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. **Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo.** Revista da Associação Médica Brasileira, São Paulo, v.43, p.61-68, 1997.

FRANCO, S.L.; BRUSCH, M.L.; MOURA, L.P.P.; BUENO, J.H.P. **Avaliação Farmacognóstica da própolis da região de Maringá.** Revista Brasileira Farmacognosia, v.9, p.1-10, 2000.

FREITAS, A.C.; FUENTES, M.F.F.; FREITAS, E.R.; SUCUPIRA, F.S.; OLIVEIRA, B.C.M. **Efeitos de níveis de proteína bruta e energia metabolizável na dieta sobre o desempenho de codornas de postura.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, p.838-846, 2005.

FREITAS, E. R, BORGES, A.D.S.; TREVISAN, M.T.S.; DA CUNHA, A.L.; BRAZ, N.D.M.; WATANABE, P.H.; DO NASCIMENTO, G.A.J. **Extratos etanólicos de manga como antioxidantes na alimentação de poedeiras.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 48, n. 7, p. 714-721, 2013.

GENOVA, J.L.; RODRIGUES, R.B.; MARTINS, J.S.; UCZAY, M. e HENRIQUES, J.K.S. **Própolis e pólen apícola na nutrição de animais não ruminantes.** Archivos de Zootecnia, v. 69, n. 265, p. 124-131, 2020.

GIAMPIETRO, A.; SCATOLINI, A.M.; BOIAGO, M.M. **Estudo da metodologia de TBARS em ovos.** Revista Avisite, n.13, p.18-18, 2008.

GHISALBERTI, E.L. **Propolis: A review.** Bee World, v.60, p.59-84, 1979.

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

HENRIQUE, A. **Alimentos Funcionais: Parte 2.** Revista Oxidologia, 2:8-13, 2002.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. **An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers.** The Veterinary Journal, v. 187, n. 2, p. 182-188, 2011.

IBGE, **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/0?ano=2018>. Acesso em 10 set. 2021. 2020.

KIRSCHIVIK, N.; LEKEUX, P. **Oxidants and airway inflammations.** In: World Equine Airways Symposium, 3, Nova York, Proceedings. Nova York: Cornell University. p.36-38, 2005.

LEE, B.D.; KIM, D.J.; LEE, S.J. **Nutritive and economic values of high oil corn in layer diet.** Poultry Science, v.80, n.11, p.1527-1534, 2001.

LÓPEZ, B.G.C.; SCHMIDT, E.M.; EBERLIN, M.N.; SAWAYA, A.C.H.F. **Phytochemical markers of different types of red propolis.** Food Chemical, 146, 174–180, 2014.

LORENÇON, L.; NUNES, R.V.; POZZA, P.C.; POZZA, M.S.S.; APPELT, M. D.; SILVA, W.T.M. **Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas.** Acta Scientiarum Animal Sciences. v. 29, n. 2, p. 151-158, 2007.

LUNA, A.; LÁBAQUE, M.C.; ZYGADLO, J.A.; MARIN, R.H. **Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat.** Poultry Science, v. 89, n. 2, p. 366-370, 2010.

MANI, F.; DAMASCENO, H.C.R.; NOVELLI, E.L.B.; MARTINS, E.A.M.; SFORCIN, J.M. **Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables.** *Journal Ethnopharmacological*, 105:95-98, 2006.

MARCUCCI, M.C. **Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis.** *Química nova*, 19(5):529-534; 1996.

MARCUCCI, M.C.; FERRERES, F.; GARCIA-VIGUERA, C.; BANKOVA, V.S.; DE CASTRO, S.L.; DANTAS, A.P. **Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities.** *Journal Ethnopharmacology*, v.74, p.105-112, 2001.

MENDES, A.A.; SALDANHA, É.S.P.B. **Produção de frango de corte. A cadeia produtiva da carne de aves no Brasil.** Campinas: Facta, 356p, 2004.

MENDONÇA, M. O. Desempenho zootécnico e qualidade de ovos de codornas japonesas alimentadas com diferentes rações de ômega-3. Tese (Doutorado em Zootecnia). Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Viçosa, 2013.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêutico: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n.2, p. 99-112, 2006.

MURAKAMI, A.E.; ARIKI, J. **Produção de codorna japonesa.** Jaboticabal: Funep, 1998, 79 p.

NIEVA MORENO, M.I.; ISLAA, M.I.; CUDMANIB, N.G.; VATTUONEA, M.A.; SAMPIETRO, A.R. **Screening of antibacterial activity of Aimacha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis.** *Journal Ethnopharmacology*, v. 68, n. 1- 3, p. 97-102, 1999.

Lu, L., CHEN, Y.; CHOU, C. **Antibacterial activity of propolis against Staphylococcus aureus.** *International Journal Food Microbiology*, v. 102, n. 213-220, 2005.

OLDONI, T.L.C.; CABRAL, I.S.R.; D'ARCEA, M.A.B.R.; ROSALEN, P.L.; IKEGAKI, M.; NASCIMENTO, A.M.; ALENCAR, S.M. **Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis.** *Separation and Purification Technology*, v. 77, n. 2, p. 208-213, 2011.

OLMEDO, R.; NEPOTE, V.; GROSSO, N.R. **Antioxidant activity of fractions from oregano essential oils obtained by molecular distillation.** *Food Chemistry*, v. 156, n. 1, p. 212-219, 2014.

PANDOLFI, J.R.C e MOTA, S.C.A. **O futuro da avicultura comercial no cenário de retirada de antimicrobianos como melhoradores de desempenho.** Avicultura Industrial, v.1302, n.8, p.14-16, 2020.

PASCOAL, L. A. F. **Qualidade de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na cidade de Imperatriz-MA.** Revista Brasileira Saúde Produção Animal, vol. 9, n.1, p. 150-157, 2008.

PASTORE, S. M.; OLIVEIRA, W. P.; MUNIZ, J. C. L. **Panorama da coturnicultura no Brasil.** Revista Eletrônica Nutritime, v. 9, n. 6, p. 2041-2049, 2012.

PICCINELLI, A.L.; LOTTI, C.; CAMPONE, L.; CUESTA-RUBIO, O.; FERNANDEZ, M.C.; RASTRELLI, L. **Cuban and Brazilian red propolis: Botanical origin and comparative analysis by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 59, n. 12, p. 6484-6491, 2011.

PIETTA, P.G. **Flavonoids as antioxidants.** Journal Nature Products, v. 63, n. 7, p. 1.035-1.042, 2000.

PINTO, R; FERREIRA, A. S.; ALBINO, L. F. T.; GOMES, P. C.; DE VARGAS JÚNIOR, J. G. **Níveis de proteína e energia para codornas japonesas em postura.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.4, p.1761-1770, 2002.

PRADO, O.P.P. **Própolis e monensina sódica em dietas volumosas sobre a digestibilidade e características ruminais de bovídeos.** (Tese de Doutorado). Maringá (PR). Universidade Estadual de Maringá; 2008.

RÊGO, I.O.P.; CANÇADO, S.V.; FIGUEIREDO, T.C.; MENEZES, L.D.M.; OLIVEIRA, D.D.; LIMA, A.L.; CALDEIRA, L.G.M.; ESSER, L.R. **Influência do período de armazenamento na qualidade do ovo integral pasteurizado refrigerado.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, vol. 64, n.3, p.735-742. 2012.

SALATINO, A.; TEIXEIRA, E.W.; NEGRI, G; MESSAGE, D. **Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis.** Oxford University Press Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, v. 2 n.1: p.33-38, 2005.

SCAZZOCCHIO, F.; D'AURIA, F.D.; ALESSANDRINI, D.; PANTANELLA, F. **Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis.** Microbiology, v. 4, p. 327-333, 2005.

SILVA, B.B.; ROSALEN, P.L.; CURY, J.A.; IKEGAKI, M.; SOUZA, V.C.; ESTEVES, A.; ALENCAR, S. M. **Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 5, p. 313–316, 2008.

TATLI-SEVEN, P. **The effects of dietary Turkish propolis and vitamin C on performance, digestibility, egg production and egg quality in laying hens under different environmental temperatures.** Asian-Australasian Journal Animal Science, v. 21, p. 1164-1170, 2008.

VACA, C.E.; WILHEM, J.; HARMS-RINGDAHL, M. **Interaction of lipid peroxidation products with DNA.** A review. Mutation Research, v.195, p.137-149.1988.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. **Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.** International Journal of Biochemistry & Cell Biology, v. 39, n.1, p.44-84, 2007.

VARGAS, A.C.; LOGUERCIO, A.P.; WITT, N.M.; DA COSTA, M.M.; SÁ E SILVA, M.; Viana, L.R. **Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis.** Ciência Rural, v. 34, p. 159-163. 2004.

VICENTINO, A.R.R.; MENEZES, F.S. **Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH.** Revista Brasileira Farmacognosia, v. 17, p. 384-387, 2007.

WARDY, W.; TORRICO, D.D.; NO, H.K.; PRINYAWIWATKUL, W.; SAALIA, F.K. **Edible coating affects physic-functional properties and shelf life of chicken eggs during refrigerated and room temperature storage.** International Journal of Food Science & Technology, v.45, p.2659–2668, 2010.

XIE, X.; GI, M.; FUJIOKA, M.; DOI, K.; YAMANO, S.; TACHIBANA, H.; FANG, H.; KAKEHASHI, A.; WANIBUCHI, H. **Ethanol-extracted propolis enhances BBN-initiated urinary bladder carcinogenesis via non-mutagenic mechanisms in rats.** Food and Chemical Toxicology, v.83, p.193-200, 2015.

ZEWEIL, H. S.; ZAHRAN, S.M.; ABD EL-RAHMAN, M.H.A.; DOSOKY, W.M.; ABU HAFSA, H.; MOKTAR, A.A. **Effect of using bee propolis as natural supplement on productive and physiological performance of japanese quail.** Egyptian Poultry Science Journal, v. 36, n. 1, p. 161-175, 2016.

ZORRO, A.; GOMES, J.; PINTO, P.; RODRIGUES, A.L. **Determinação da lipoperoxidação em óleo alimentar.** Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária, v. 5, p. 39-42, 2012.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Utilização de própolis vermelha como alternativa ao uso de antimicrobianos na alimentação de codornas de postura.", protocolada sob o CEUA nº 2307170920 (00 001226), sob a responsabilidade de **Denise Nunes Araujo e equipe; Patricia Rodrigues Antelo López García; Lenita de Moura Stefani** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 25/09/2020.

We certify that the proposal "Use of red propolis as an alternative to the use of antimicrobials in the feeding of laying quails.", utilizing 120 Birds (120 females), protocol number CEUA 2307170920 (00 001226), under the responsibility of **Denise Nunes Araujo and team; Patricia Rodrigues Antelo López García; Lenita de Moura Stefani** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 09/25/2020.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [02/2021](#) a [04/2021](#) Área: [Zootecnia](#)

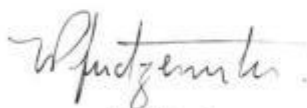
Origem: [Animais provenientes de estabelecimentos comerciais](#)

Espécie: [Aves](#) sexo: [Fêmeas](#) idade: [35 a 105 dias](#) N: [120](#)

Linhagem: [coturnix coturnix japonica](#) Peso: [120 a 180 g](#)

Local do experimento: No setor de avicultura do Centro de Educação Superior do Oeste □ UDESC, em Chapecó.

Lages, 29 de setembro de 2020



José Cristani
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade do Estado de Santa Catarina

Pedro Volkmer de Castilhos
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade do Estado de Santa Catarina