



**UDESC**

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC

CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**EXTRATO DE FOLHAS DE ARAÇÁ  
(*Psidium cattleianum* SABINE) COMO  
ADITIVO NA RAÇÃO DE GALINHAS  
POEDEIRAS: IMPACTOS SOBRE A SAÚDE  
E QUALIDADE DOS OVOS.**

**ARIANE FORTES ALFREDO DOS SANTOS**

**CHAPECÓ, 2020**



**ARIANE FORTES ALFREDO DOS SANTOS**

**EXTRATO DE FOLHAS DE ARAÇÁ (*Psidium cattleianum* SABINE) COMO  
ADITIVO NA RAÇÃO DE GALINHAS POEDEIRAS: IMPACTOS SOBRE A  
SAÚDE E QUALIDADE DOS OVOS**

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 de grau de Mestre em Zootecnia

Orientador (a): Dióvani Paiano  
Co-orientador(s): Aleksandro Schafer Da Silva

**Chapecó, SC, Brasil**

**2020**

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

Dos Santos, Ariane Fortes Alfredo  
EXTRATO DE FOLHAS DE ARAÇÁ (*Psidium cattleianum*  
SABINE) COMO ADITIVO NA RAÇÃO DE GALINHAS  
PODEIRAS: IMPACTOS SOBRE A SAÚDE E QUALIDADE  
DOS OVOS / Ariane Fortes Alfredo Dos Santos. -- 2020.  
75 p.

Orientador: Dióvani Paiano  
Coorientador: Aleksandro Schafer Da Silva  
Coorientador: Marcel Manente Boiago  
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2020.

1. Atividade antibacteriana. 2. Atividade antioxidante. 3. Extrato  
vegetal. 4. Fitogênico. I. Paiano, Dióvani. II. Da Silva, Aleksandro  
Schafer . Boiago, Marcel Manente. III. Universidade do Estado de  
Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

**Universidade do Estado de Santa Catarina  
UDESC Oeste  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

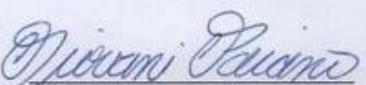
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

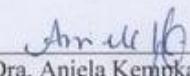
**EXTRATO DE FOLHAS DE ARAÇÁ (*Psidium cattleianum* SABINE) COMO  
ADITIVO NA RAÇÃO DE GALINHAS POEDEIRAS: IMPACTOS SOBRE A SAÚDE  
E QUALIDADE DOS OVOS**

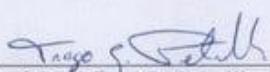
Elaborada por  
**Ariane Fortes Alfredo dos Santos**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Zootecnia**

Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. Diovani Paiano - UDESC

  
Profa. Dra. Aniela Kempka - UDESC

  
Prof. Dr. Tiago G. Petrolli - UNOESC

Chapecó, 04 de fevereiro de 2020.



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder o dom da vida e por sempre colocar pessoas maravilhosas em meu caminho, as quais me fazem ser melhor e me encorajam a prosseguir.

Ao amor da minha vida, Douglas, que é meu porto seguro e me manteve firme até o fim da jornada.

Aos meus pais que nunca mediram esforços para me ensinarem o caminho do bem e sempre me apoiaram em todas as etapas da minha vida e ao meu irmão Bruno que sempre esteve ao meu lado.

As minhas alegrias e companheiras leais, Bela e Penélope, deixam minha vida mais leve.

Ao meu orientador, Professor Dióvani, por me aceitar e pela oportunidade de realizar este trabalho. Obrigada pela confiança e paciência todas as vezes que precisei. Muito obrigada!

Ao meu co-orientador Aleksandro que me possibilitou a concretização deste projeto, muito obrigada!

Ao meu co-orientador Marcel, que além dos ensinamentos e apoio se tornou um amigo.

Aos colegas de mestrado, especialmente Gabriela, Gilnéia, Davi, Carol e Ariene que me ajudaram sem medir esforços, levarei vocês no meu coração!

As professoras Aniela (UDESC) e Carine (UFSM) pelo apoio no projeto! Muito obrigada.

A UDESC quero deixar uma palavra de gratidão por ter me recebido de braços abertos e com todas as condições que me proporcionaram dias de aprendizagem muito ricos.



## **RESUMO**

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade do Estado de Santa Catarina

### **EXTRATO DE FOLHAS DE ARAÇÁ (*Psidium cattleianum* SABINE) COMO ADITIVO NA RAÇÃO DE GALINHAS POEDEIRAS: IMPACTOS SOBRE A SAÚDE E QUALIDADE DOS OVOS.**

Autor: Ariane Fortes Alfredo dos Santos

Orientador: Diovani Paiano

Coorientador: Aleksandro S. da Silva

Chapecó, 04 de fevereiro de 2020

As galinhas poedeiras necessitam de aporte nutricional adequado para desempenhar seu máximo potencial zootécnico e produzirem ovos com maior qualidade. Aditivos herbais podem ser uma alternativa para melhorar a saúde e maximizar a produção e a qualidade dos ovos. As plantas da família Myrtaceae são amplamente utilizadas como suplementos nutricionais por apresentarem propriedades farmacológicas, como antioxidantes e antimicrobianas. O araçazeiro, cujo fruto é o araçá, pertencente à referida família, é uma espécie nativa do Brasil, e tanto a fruta como suas partes foliares apresentam grande quantidade de compostos fenólicos que podem exercer efeitos positivos na saúde de galinhas poedeiras, e consequentemente, melhora na qualidade dos ovos. Portanto, o objetivo com a realização deste estudo foi avaliar os efeitos da inclusão de extrato de folhas de araçá na dieta de galinhas poedeiras sobre o desempenho produtivo, imunidade, variáveis bioquímicas e qualidade de ovos. O experimento foi realizado em um galpão experimental no campus UDESC Oeste, com 60 galinhas poedeiras (Isa Brown) com 45 semanas de idade. As aves foram aleatoriamente alocadas em cinco tratamentos com quatro unidades experimentais de três aves. Foi utilizado um delineamento inteiramente ao acaso com cinco tratamentos (0,0; 0,05; 0,10; 0,15 e 0,20 g/kg extrato de folha de araçá). Ao final do período experimental foram calculadas a produção e a conversão alimentar. As coletas de sangue foram realizadas no primeiro e no último dia do experimento para avaliar leucócitos, variáveis bioquímicas e níveis séricos de oxidantes e antioxidantes. Ovos foram coletados no 28º dia do experimento para análises físico-químicas e status oxidantes (ovos frescos e estocados por 4 semanas à 23°C). A inclusão do extrato de folhas de araçá não afetou o desempenho zootécnico das aves. A adição de níveis crescentes de extrato de folhas de araçá ao final dos 28 dias de tratamento reduziu linearmente as concentrações de heterófilo, eosinófilo, atividade da peroxidação lipídica (LPO) sérica, contagem bacteriana total em fezes e em cascas, *E. coli* em cascas e pH do albúmen de ovos armazenados por quatro

semanas. A gravidade específica de ovos armazenados e a capacidade antioxidante total (ACAP) de ovos frescos e armazenados aumentou linearmente. O modelo quadrático com ponto de mínimo teve o melhor ajuste para os valores observados dos leucócitos, linfócitos e LPO de ovos armazenados com pontos de inflexão de 0,191, 0,197; e 0,130 g/kg, respectivamente, e o modelo quadrático com ponto de máximo ajustou melhor as médias da glutatona S-transferase (GST) com ponto de inflexão e 0,13 g/kg. A suplementação com extrato de folhas de araçá para aves poedeiras por um período de 28 dias não afetou o desempenho zootécnico, mas apresentou efeitos positivos sobre a resposta antiinflamatória celular, antioxidante e na contagem bacteriana fecal. Os efeitos da administração do extrato das folhas de araçá na alimentação de galinhas poedeiras foram benéficos à saúde das aves, melhorou a qualidade dos ovos, com destaque para a menor contaminação bacteriana da casca e maior estabilidade interna dos ovos armazenados.

**Palavras-chave:** Atividade antibacteriana; Atividade antioxidante; Extrato vegetal; Fitogênico.

**ABSTRACT**  
Master's Dissertation  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade do Estado de Santa Catarina

**ADDITION OF ARAÇÁ LEAF EXTRACT (*Psidium cattleianum* SABINE) IN THE DIET OF LAYING HENS: IMPACTS ON BIRD HEALTH AND EGG QUALITY**

Author: Ariane Fortes Alfredo dos Santos  
Advisor: Diovani Paiano  
Chapecó, 04 de fevereiro de 2020

Layers require adequate nutritional input to perform their maximum zootechnical potential and produce eggs with higher quality. Phytotherapy additives can be an alternative to improve health and maximize production and egg quality. Myrtaceae family plants are widely used as nutritional supplements because they have pharmacological properties such as antioxidants and antimicrobials. The araçazeiro, whose fruit is araçá, belonging to the family, is a native fruit of Brazil, both fruit and its leaf parts have a large amount of phenolic compounds that can have positive effects on the health of layers, and consequently, improvement in egg quality. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of the inclusion of araçá leaf extract in the diet of layers on productive performance, immunity, biochemical variables and egg quality. The experiment was carried out in an experimental shed on the UDESC Chapecó campus, with 60 layers (Isa Brown) at 45 weeks of age. The birds were randomly allocated in five treatments with four experimental units of three birds. A completely randomized design was used with five treatments (0,05; 0,10; 0,15 and 0,20 g/kg of araçá leaf extract). At the end of the experimental period, food production and conversion were calculated. Blood collections were performed on the first and last day of the experiment to evaluate leukocytes, biochemical variables and serum levels of oxidants and antioxidants. Eggs were collected on the 28th day of experiment for physicochemical analysis and oxidizing status (fresh eggs and stocked ones for 4 weeks at 23°C). The inclusion of araçá leaf extract did not affect the zootechnical performance of the birds. The addition of increasing levels of araçá leaf extract reduced linearly at the end of the 28 days of treatment the concentrations of hemophile, eosinophil, activity of serum lipid peroxidation (LPO), total bacterial count in feces and shells, *E. coli* in shells and pH of the lbumen of eggs stored for four weeks. The specific severity of stored eggs and total antioxidant capacity (ACAP) of fresh and stored eggs increased linearly. The quadratic model

with minimum point adjusted better the observed values of leukocytes, lymphocytes and LPO of the stored eggs with inflection points of 0,191, 0,197; and 0,130 g/kg, respectively, and the quadratic model with maximum point better adjusted the averages of Glutathione S-transferase (GST) with tipping point and 0,13 g/kg. Supplementation with araçá leaf extract for laying birds for a period of 28 days did not affect zootechnical performance, but it had positive effects on the cellular anti-inflammatory and antioxidant response and on the fecal bacterial count. The effects of the administration of the extract of the leaves of araçá in the feeding of laying hens were beneficial to the health of the birds, improved egg quality, with emphasis on less bacterial contamination of the shell and greater internal stability of stored eggs.

**Keywords:** Antibacterial activity. Antioxidant activity. Vegetable extract. Phytonic.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Aparência da árvore e folhas do <i>Psidium cattleianum</i> Sabine, popularmente conhecido com o araçá.....	28
Figura 2 - Temperatura de bulbo seco (DBT), Umidade relativa (RH) e Índice de temperatura e umidade (THI). .....	53



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição, níveis nutricionais calculados e níveis de antioxidantes analisados das rações experimentais para poedeiras suplementadas com extrato de folhas de araçazeiro. ....	54
Tabela 2. Consumo diário de ração (CR), conversão alimentar (CA) por massa e por dúzia de ovos, porcentagem de postura e massa de ovos (MO) de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes níveis de extrato de folhas de araçazeiro. ....	55
Tabela 3. Leucograma de poedeiras alimentadas com diferentes níveis de extrato de folhas de araçazeiro, amostras coletadas no dia vinte e oito do experimento.....	56
Tabela 4. Bioquímica sérica de poedeiras alimentadas com diferentes níveis de extrato de folhas de araçazeiro, no dia 28 de experimento.....	57
Tabela 5. Atividades séricas de peroxidação lipídica (LPO), glutationa S-transferase (GST) e glutationa peroxidase (GPx) em galinhas poedeiras alimentadas com diferentes níveis de extrato de folhas de araçazeiro na dieta (EA) por 28 dis.....	58
Tabela 6. Contagem bacteriana total (CBT), <i>Escherichia coli</i> e coliformes totais (CT) em ovos frescos de galinhas e contagem bactéria total em fezes de poedeiras alimentadas com diferentes níveis de extrato de folhas de araçazeiro (EA) por 28 dias. ....	59
Tabela 7. Resultados obtidos do pH de gema e albúmen de ovos frescos e armazenados por 28 dias, de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes níveis de extrato de folhas de araçazeiro.....	60
Tabela 8. Resultados obtidos para as seguintes análises: gravidade específica (GE), unidade Haugh (HU), índice de gema (IG), força da casca do ovo (RC. gf), espessura de casca (EC), porcentagem de gema (PG), porcentagem de casca (PC), porcentagem de albúmen (PA), luminosidade (L *), intensidade de vermelho (a *) e intensidade amarela (b *) em ovos frescos e armazenados por 28 dias de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes níveis de extrato de folhas de araçazeiro. ....	61
Tabela 9. Atividades de peroxidação lipídica (LPO) e capacidade antioxidant total (ACAP) em gema de ovos frescos e armazenados por 28 dias, de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes níveis de extrato de folhas de araçazeiro (EA). ....	62



## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	19
2	OBJETIVOS .....	21
2.1	GERAL.....	21
2.2	ESPECÍFICOS .....	21
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	23
3.2	EXTRATOS VEGETAIS.....	24
3.3	FAMÍLIA MYRTACEAE.....	25
3.3.1	Araçá ( <i>Psidium cattleianum</i> Sabine) .....	26
3.3.2	Atividade antioxidante dos extratos da família Myrtaceae .....	28
3.3.3	Atividade antimicrobiana dos extratos da família Myrtaceae .....	30
3.3.4	Atividade da família Myrtaceae no desempenho zootécnico de aves .....	30
4	MANUSCRITO.....	33
4.1	MANUSCRITO.....	34
1	INTRODUCTION.....	37
2	MATERIALS AND METHODS .....	38
2.1.	ARAÇÁ LEAF EXTRACT .....	38
2.1.1.	Acquisition and preparation of extracts.....	38
2.1.2.	Quantification of total phenolic compounds (TPC) .....	38
2.1.3.	Determination of antioxidant activity by radical reduction (DPPH).....	39
2.2.	ANIMALS, INSTALLATION AND TREATMENTS .....	39
2.3.	ZOOTECHNICAL PERFORMANCE AND EGG QUALITY .....	40
2.4.	HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL VARIABLES IN BLOOD OF BIRDS .....	41
2.5.	TOTAL BACTERIAL COUNTS (TBC) IN BIRD FECES.....	42
2.6.	STATISTICAL ANALYSIS .....	42
3.	RESULTS.....	43
3.1.	ZOOTECHNICAL DESIGN .....	43
3.2.	LEUKOGRAM AND SERUM BIOCHEMISTRIES .....	43
3.3.	SERUM LEVELS OF ANTIOXIDANT ENZYMES AND LIPOPEROXIDATION .....	43
3.4.	BACTERIAL COUNTS IN FECES .....	44
3.5.	EGG QUALITY .....	44
4.	DISCUSSION .....	45
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	64
	REFERÊNCIAS .....	66
	ANEXO 1 - CARTA DE APROVAÇÃO DO CETEA .....	74
	ANEXO 2 – CADASTRO NO PATRIMÔNIO GENÉTICO .....	75



## 1. INTRODUÇÃO

A evolução genética, o desenvolvimento nutricional, a modernização das estruturas e equipamentos das granjas, o cuidado com a biossegurança e manejo fizeram da avicultura de postura moderna um exemplo de produtividade e qualidade da proteína animal.

A postura comercial se tornou mais eficiente, as aves poedeiras são mais longevas, apresentam melhor conversão alimentar com maior produção de ovos e maior qualidade.

Para que os resultados da produção avícola de postura atendam às expectativas dos produtores, das agroindústrias e consumidores é importante observar os fatores que impactam diretamente a qualidade e lucratividade da atividade.

Estratégias de suplementação são uma alternativa para utilização na criação de aves de postura (Paulino et al., 2019). Assim, o uso de extratos herbais que favoreçam maior eficiência animal são técnicas úteis na criação de aves.

Os extratos herbais são preparações concentradas de plantas e/ou seus derivados adicionados a alimentação animal, podendo ser utilizados como aditivos nutricionais, e tem por objetivo melhorar o desempenho dos animais.

Algumas espécies da família Myrtaceae são utilizadas para fabricação de extratos herbais, são importantes no Brasil por seu potencial tecnológico e estudadas por apresentarem compostos bioativos, com atividades antioxidante, antimicrobiana e antiinflamatória.

O araçazeiro, cujo fruto é o araçá (*Psidium cattleianum*), fruta nativa do Brasil, é um desses exemplos. Ele pode ser dividido em dois fenótipos diferentes, araçá amarelo e araçá vermelho.

O uso do araçá já foi registrado como efetivo em doenças pulmonares, como analgésico periférico, controle de metástase, diarreia, diabetes (Alvarenga et al., 2013; Canova et al., 2002; Gaetti-Jardim et al., 2011) e o uso de suas folhas já foram reportados na literatura no controle de diarreia em ratos e estabilização dos perfis hematológicos (Patel et al., 2014).

Suas principais propriedades são as atividades antioxidantes e antibacterianas relacionadas aos seu alto teor de compostos fenólicos. Na criação de aves, a utilização de compostos com ações antioxidantes, protegem a reação da oxidação lipídica e combatem radicais livres.

Portanto, o objetivo com o presente estudo foi avaliar a eficácia da suplementação de diferentes níveis de extrato das folhas de araçá na alimentação de galinhas poedeiras sobre o desempenho, qualidade dos ovos (física e microbiológica) e saúde das aves.



## 2 OBJETIVOS

A seguir estão apresentados os objetivos que nortearam a pesquisa.

### 2.1 GERAL

Avaliar os efeitos da inclusão de extrato de folha de araçá em rações para galinhas poedeiras sobre o desempenho produtivo, imunidade, variáveis bioquímicas e qualidade de ovos.

### 2.2 ESPECÍFICOS

Verificar se o uso de extrato das folhas de araçá na alimentação de galinhas poedeiras:

- Melhorará o desempenho produtivo;
- Aumentará a capacidade antioxidante e reduzirá a peroxidação lipídica em ovos frescos e armazenados;
- Modificará as características dos ovos frescos e armazenados;
- Reduzirá a contagem bacteriana nas fezes das galinhas e a contagem de bactérias patogênicas na casca do ovo;
- Alterará a imunidade e as variáveis bioquímicas das aves.



### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica aborda assuntos relevantes à pesquisa, especificamente sobre definição de extratos vegetais e aditivos, assim como as propriedades antioxidantes e bacterianas da família Myrtaceae e o araçá (*Psidium cattleianum* SABINE), espécie de estudo da pesquisa.

#### 3.1 INTRODUÇÃO

A criação de aves de postura é um setor dinâmico e requer estratégias eficientes para demanda de seus produtos decorrentes (ovos). O Brasil, está entre os dez maiores produtores mundiais de ovos, no ano de 2018 contava com plantel de poedeiras comerciais de aproximadamente 160 milhões de aves e uma produção próxima de 3,68 bilhões de dúzias de ovos/ano (ABPA, 2019).

O ovo é considerado um alimento de alto valor biológico e uma fonte de proteína de fácil acesso para os consumidores. Grande parcela da produção brasileira é destinada ao consumo interno, com aproximadamente 212 ovos consumidos por habitante/ano (ABPA, 2019).

As poedeiras comerciais possuem diferentes necessidades metabólicas para produção. As aves apresentam menor consumo de ração, melhor conversão alimentar devido ao metabolismo mais rápido, levando a maior produção de ovos. Porém, o aumento esperado na produção pode trazer consigo aspectos negativos, podendo interferir na saúde animal, com o desenvolvimento de doenças metabólicas (Costa; Pinheiro; Lima, 2015).

Áreas como genética, nutrição, manejo e sanidade são frentes importantes para que a produção de ovos seja otimizada, gerando índices atrativos. Para que as aves possam expressar seu máximo potencial, é preciso que a alimentação das galinhas poedeiras seja atendida conforme suas exigências nutricionais (Costa; Pinheiro; Lima, 2015).

Aliadas, nutrição, produção e qualidade, estratégias de suplementação são uma alternativa para utilização na criação de aves de postura. Assim, alternativas como o uso de aditivos naturais que atinjam a máxima eficiência animal, são técnicas úteis na criação de aves (Paulino et al., 2019).

Aditivos de extratos herbais são utilizados na alimentação animal e são estudados como melhoradores de performance, pois têm capacidade de reduzir o crescimento de microrganismos patogênicos e apresentar ação antioxidante (Windisch et al., 2007), eficazes no melhoramento do desempenho e na imunidade dos animais (Tonet; Silva; Pontara, 2016).

Na criação de aves, a utilização de compostos com ações antioxidantes pode ser utilizada para proteger a reação da oxidação lipídica. Sabe-se também que os benefícios de seu uso se estendem até as prateleiras, com aumento do tempo de vida de carne e ovos, pois esses produtos são ricos em ácidos graxos e altamente sujeitos ao processo de oxidação lipídica (Bou et al., 2001; Freitas et al., 2012).

### 3.2 EXTRATOS VEGETAIS

Os extratos vegetais são preparações concentradas de plantas e/ou seus derivados, que podem ser adicionados na alimentação animal com o objetivo de melhorar o desempenho zootécnico (Applegate et al., 2010; Windish; Kroismayr, 2006). Eles apresentam atividades antioxidantes e antimicrobianas, em consequência à presença de substâncias como, compostos fenólicos, terpenos, fenilpropanoides e alcaloides, que são metabólitos oriundos do metabolismo secundário das plantas, que agem para inibir ou destruir bactérias patogênicas e radicais livres (Ponzilacqua et al., 2018; Savoia, 2012).

Aspectos de composição e concentração dos extratos são importantes, bem como fatores: espécie, partes da planta utilizada, clima e tempo de coleta, podem apresentar diferenças quantitativas e qualitativas na sua composição e atuação. As variações sazonais são um dos fatores que exercem maior influência no desenvolvimento das espécies e consequentemente na produção de quase todas as classes de metabólitos secundários (Dacoreggio; Moroni; Kempka, 2019; Hashemi; Davoodi, 2011).

O homem, desde a pré-história, utiliza recursos vegetais para fins terapêuticos, Rai, Prasad e Sharma (2000), estimam que em todo o mundo 85% das pessoas são adeptas e utilizam plantas e/ou frutos para tratamento de doenças. O aumento no número de pesquisas para identificar extratos naturais, está diretamente relacionado aos níveis de antioxidantes presentes nesses extratos, que visam diminuir e/ou controlar o estresse oxidativo, com consequente efeito benéfico ao animal e seus produtos (Lobo et al., 2010; Marinho et al., 2016).

Por esses motivos, a busca por alternativas, economicamente viáveis e sustentáveis que maximizem a produção e melhorem a qualidade dos produtos de origem animal sem causar problemas relacionados ao uso de aditivos, é uma tendência global, de forma a atrair indústrias e consumidores (Fernandes; Bizerra, 2020).

### 3.3 FAMÍLIA MYRTACEAE

A família Myrtaceae tem aproximadamente 140 gêneros e 5760 espécies, e são encontradas em regiões tropicais e subtropicais, como Austrália, Ásia e América do Sul e Central. No Brasil é considerada uma das famílias mais importantes de angiospermas (Landrum; Kawasaki, 1997), onde são registrados 23 gêneros e quase 300 espécies (Sobral et al., 2013).

É subdividida em duas subfamílias: Myrtoidea, que possui frutos com baga e folhas opostas; e Leptospermoidae, que possui frutos com cápsulas ou núcules e folhas alternas ou opostas (Sobral et al., 2013), apresenta algumas espécies com potencial econômico, como a goiaba (*Psidium guajava* L.), a pitanga (*Eugenia uniflora* L.), a jabuticaba (*Plinia cauliflora*), que são consumidas em forma de doces, sucos, geleias e sorvetes (Lorenzi et al., 2006). Algumas espécies são utilizadas para ornamentação, como a murta (*Eugenia sprenzelii* DC.) e érica (*Leptospermum scoparium*) (Lorenzi; Souza, 2001). O eucalipto (*Eucalyptus spp*), também integrante da família é conhecido como fonte de madeira, também pode ser extraído essências usadas como aromatizantes em produtos de higiene ou de limpeza (Camilo et al., 2004). Outras espécies são conhecidas por sua importância ecológica, pois são fontes de alimento para animais silvestres, que por sua vez favorecem a dispersão das sementes e a sobrevivência das espécies (Gressler; Pizo; Morellato, 2006).

Além das propriedades citadas, as espécies da família Myrtaceae também são utilizadas com fins medicinais, para o tratamento de verminoses e diarreias (*Psidium guajuva* L.), gastroenterites (*Syzygium aromaticum*), cicatrizantes e anti-sépticos (*Psidium guineense*), afecções do trato respiratório (*Eucalyptus globulus* L.), diabetes (*Eugenia jambolana* e *Eugenia puniceifolia*) (Adebajo; Oloki; Aladesanmi, 1989; Grover; Vats; Rathi., 2000 Di Stasi; Hiruma-Lima, 2002; Pepato et al., 2005; Lorenzi e Matos, 2008).

Na literatura também são descritas propriedades importantes e de alta relevância, como ação antioxidantes (Kade et al., 2008), antiparasitária (Fichi et al., 2007), antimicrobiana (Dacoreggio; Moroni; Kempka, 2019), hipoglicemiante e ação antilipidogênicas (Raivi; Rajasekaran; Subramanian, 2005).

### 3.3.1 Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine)

O araçazeiro cujo fruto é o araçá, também conhecido como araçá-do-mato e araçá-do-campo (Fetter et al., 2010), é uma espécie nativa brasileira, se apresenta na forma de pequenas árvores ou arbustos de até seis metros de altura e tronco tortuoso, seu fruto é pequeno, pode ser dividido em dois fenótipos diferentes, araçá-amarelo (Figura 1) e araçá-vermelho de acordo com a coloração dos seus respectivos frutos, floresce entre os meses de junho a dezembro e a fruta amadurece entre setembro e março (Biegelmeyer et al., 2011).

Assim como outras espécies da sua família, seu fruto pode ser consumido *in natura*, geleias, doces e sucos com alto potencial no setor agroalimentar. O fruto e as partes foliares apresentam altos teores de compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides, entre outros, com boa capacidade antioxidante e consequente potencial farmacêutico (Biegelmeyer et al., 2011).

A composição química do araçá amarelo é de aproximadamente  $85,5\pm3,2\%$  de umidade, e apresenta composição nutricional corrigida para a matéria seca de  $5,5\pm0,2\%$  de cinzas,  $6,9\pm0,1\%$  de proteínas,  $1,4\pm0,2\%$  de lipídeos,  $55,1\pm3,4\%$  de carboidratos totais e  $31,0\pm0,7\%$  de fibras (Silva et al., 2014). Os principais aminoácidos essenciais presentes no araçá são leucina, lisina, tirosina, isoleucina e valina e os não essenciais são: glutamina, asparagina, alanina, glicina, prolina, serina, arginina e hidroxiprolina (Hall et al., 1980). Em relação a composição mineral em um estudo com espécie com características semelhantes (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) Adrian et al. (2015) verificaram níveis na matéria seca de  $1,26\pm0,07\%$  de potássio,  $32,07\pm2,42$  mg/kg de ferro e  $13,62\pm1,18$  mg/kg de zinco.

O ácido linoleico é o ácido graxo mais representativo no araçá amarelo com  $61,0 \pm 2,5\%$  do total relativo de lipídeos (Biegelmeyer et al., 2011) seu consumo está associado ao menor risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e aterosclerose, exerce efeito antimutagênico e anticarcinogênico, bem como é estimulante do sistema imunológico (Koba; Yanagita, 2014).

A vitamina C também é presente no araçá, com valores de 200 e 242 mg/g de frutas, para o genótipo vermelho ou amarelo, respectivamente (Luximon-Ramma; Bahorun; Crozier, 2003).

Os níveis de carotenoides totais no araçá variam entre 389,0 -1084,0 µg e 364,4 -1134,0 µg de equivalentes de β-caroteno /100 g de fruta, para araçá amarelo e vermelho, respectivamente (Medina et al., 2011; Vinholes et al., 2017). Os carotenoides são importantes compostos antioxidantes, que agem na redução de doenças associadas ao estresse oxidativo.

O conteúdo total de compostos fenólicos, 5372 mg e 5638 mg de ácido GAE / 100 g de araçá amarelo e vermelho respectivamente (Vinholes et al., 2017). O ácido elágico (2213–3818

$\mu\text{g/g}$  de extrato do fruto) foi o composto fenólico mais representativo no araçá (Ribeiro et al., 2014). Os compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas, formados em condições de estresses e são essenciais para seu crescimento e reprodução (Naczk; Shahidi, 2004), eles agem nas espécies reativas de oxigênio e radicais livres, que são responsáveis pela origem de várias patologias (Heim; Tagliaferro; Bobilya, 2002).

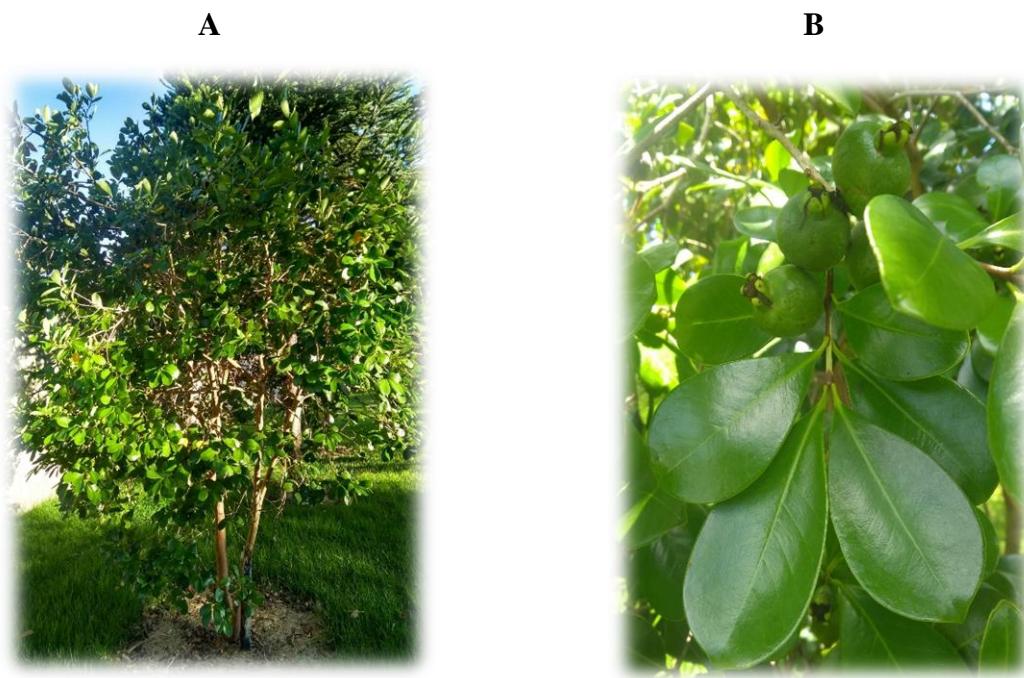
Alvarenga et al. (2016), ao avaliar o perfil cromatográfico das folhas do araçá observaram a prevalência de compostos da classe de flavonóides e ácido elágico.

O uso do araçá já foi registrado como coadjuvante no tratamento de tosse e doenças pulmonares (Gaetti-Jardim et al., 2011), como analgésico periférico (Alvarenga et al., 2013) e também existem relatos de sua atuação na redução de células cancerígenas e controle de metástases (Canova et al., 2002).

As folhas do araçá são comumente utilizadas para combate de diarreia e diabetes (Patel et al., 2014) e resultados de estudos recentes têm demonstrado a utilização do extrato de folhas de araçá na terapia experimental contra o câncer (Im et al., 2012).

O extrato de folhas de *P. guajava* (goiaba), também pertencente à família do araçá provou ter efeitos antidiarreicos, Koriem, Arbid e Saleh (2019) em ratos provaram que o uso de extrato de folhas por via oral regularizou parâmetros hematológicos e bioquímicos nos animais acometidos pela diarreia.

Figura 1 – Aparência da árvore (A) e folhas e fruto do *Psidium cattleianum* Sabine (B), popularmente conhecido com o araçá.



Fonte: autores, 2019.

### 3.3.2 Atividade antioxidante dos extratos da família Myrtaceae

A oxidação é uma reação química que transfere elétrons ou hidrogênio de substâncias a um agente oxidante. As reações de oxidação podem produzir radicais livres, que desencadeiam reações, causando o que chamamos de estresse oxidativo, entendido como um desbalanço de oxigênio e nitrogênio reativos no organismo, e desenvolve principalmente doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, que culminam com o envelhecimento e morte (Yoshihara; Fujiwara; Suzuki, 2010).

Os antioxidantes são responsáveis pelos mecanismos de defesa do corpo contra patologias associadas ao ataque de radicais livres. Assim, o consumo de antioxidantes derivados de plantas está envolvido na prevenção de doenças degenerativas causadas por estresse oxidativo (Lee; Koo; Min, 2004; Valko et al., 2007). Os antioxidantes são moléculas estáveis, que têm a capacidade de doar um elétron para os radicais livres, fazendo sua neutralização. As aves possuem sistemas antioxidantes, como enzimas e outras moléculas. Porém, quando os antioxidantes endógenos não são suficientes o uso de fontes exógenas, como os aditivos vegetais, podem ser positivos (Lobo et al., 2010; Yoshihara; Fujiwara; Suzuki 2010).

O araçá contém uma grande quantidade de compostos fenólicos, incluindo epicatequina e ácido elágico como principais componentes (Medina et al., 2011). Apresentam também, em quantidades menores, ácido cumárico, ácido ferúlico, miricetina, quercetina e vitamina C (3,26 g/kg da parte comestível dos frutos) (Raseira; Raseira, 1996). Alvarenga et al. (2016), ao avaliar o perfil cromatográfico das folhas do araçá observaram a prevalência de compostos da classe de flavonóides e ácido elágico.

A epicatequina, pertencente a classe dos flavonóides, contribui para a redução de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, por seu potencial antioxidante, e desempenha também papel na vasodilatação, redução da pressão sanguínea e é antimicrobiano (Haas, 2011).

O ácido elágico é um composto fenólico, apresenta efeitos como: cicatrizantes (Al-Obaidi et al., 2014), anti-hemorrágico (Gopalakrishnan et al., 2014), atividade bacteriostática e bactericida (*S. aureus* e *P. aeruginosa*) e uma alta atividade antioxidante (Tavares et al., 2018). Esses efeitos podem estar relacionados com sua capacidade antioxidante, seja pelo mecanismo de sequestramento de radicais livres ou pelo quelante de íons metálicos (Dalvi, 2014; Larrosa et al., 2010), assim, atua contra o estresse oxidativo, uns dos principais responsáveis por ocasionar danos oxidativos no organismo, além de atuar indiretamente na ativação dos sistemas enzimáticos celulares antioxidantes (Mehrzahl et al., 2018).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos está relacionada com sua estrutura química, a qual é formada pelo anel benzênico com grupos hidroxilos ligados diretamente à estrutura cíclica, a maior ou menor capacidade antioxidante depende do número e da posição das hidroxilos (Pietta, 2000)

Esses compostos fenólicos são oriundos do metabolismo secundário das plantas, estimulados principalmente em condições de estresse. Eles são estruturas químicas que possuem hidroxilos a anéis aromáticos que conferem capacidade antioxidante (Lin, Lin; Hsu, 2016) e também possuem importante ação na modulação da microbiota intestinal, que por sua vez atua na biodisponibilidade e biotransformação de macronutrientes, com melhora na saúde do animal de forma geral (Kasubuchi et al., 2015; Wan et al., 2018).

Oliveira (2016) estudou a performance zootécnica de codornas japonesas e a estabilidade oxidativa das gemas de ovos armazenados por 0, 9, 18 e 27 dias alimentadas com ração suplementadas com extrato de resíduos de goiaba, embora não tenha obtido efeitos sobre a performance, o extrato retardou a oxidação lipídica das gemas dos ovos. Destaca-se que araçá e a goiaba tem compostos antioxidantes semelhantes.

### **3.3.3 Atividade antimicrobiana dos extratos da família Myrtaceae**

A atividade antimicrobiana observada na família Myrtaceae deve-se a compostos como taninos, óleos essenciais e compostos fenólicos (Loguécio et al., 2005). Os mecanismos desses compostos que conferem as plantas capacidades antimicrobianas estão relacionadas à regulação do metabolismo intermediário das bactérias, por meio do bloqueio de algumas reações químicas, ou até mesmo alterações nas membranas (Tiwari et al., 2011).

Os compostos fenólicos podem inibir a síntese de ácidos nucléicos de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Cushnie; Lamb, 2005). Simões (2018), observou que a ação antimicrobiana da goiaba pode estar relacionada à inibição de enzimas das bactérias, à ação direta na membrana dos micro-organismos ou pela competição pelos íons metálicos, essenciais ao metabolismo microbiano.

O extrato de folhas de araçazeiro possui ação análoga aos antimicrobianos, com redução do desenvolvimento de patógenos como *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e o *Enterococcus faecalis* (Gaetti-Jardim et al., 2011). Também já foi verificado efeito antimicrobiano do extrato e óleo de araçá sobre bactérias patogênicas, relevantes na avicultura como *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*, e contra patógenos de importância para a saúde pública como *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus* (Scur et al., 2016; Garcia, 2018). Ponzilacqua et al. (2018) também relataram a ação do extrato de folhas de araçá contra *Aspergillus parasiticus*.

Em pesquisa realizada por Castro et al. (2014) com folhas de araçá na qual foram avaliados os efeitos sobre cepas fúngicas clínicas como *Trochosporon asahii*, *Candida parapsilosis*, *Candida albicans*, *Candida lipolytica* e *Candida guilliermondii*, os autores verificaram inibição do crescimento das cepas citadas. Assim como, a pesquisa de Sangalli et. al. (2018) com utilização de extrato foliares de *Psidium cattleianum*, em que os autores verificaram alta atividade antimicrobiana contra *Enterococcus fecalis* com redução significativa da carga microbiana em 24 horas.

### **3.3.4 Atividade da família Myrtaceae no desempenho zootécnico de aves**

Para alcançar bons índices na produção de frangos de corte, a utilização de aditivos são medidas adotadas para controlar a população patogênica do trato gastrointestinal e alcançar melhor desempenho zootécnico (Toledo et al., 2007).

Nas poedeiras, o objetivo com a utilização de aditivos na forma de extratos vegetais está relacionado à produção, ou seja, produto final que é o ovo, uma vez que os aditivos melhoram a saúde geral das aves e consequentemente a qualidade dos ovos. O consumidor passou a dar maior atenção a qualidade dos alimentos, o que tem estimulado os pesquisadores e a indústria de alimentos a desenvolverem produtos enriquecidos com aditivos capazes de produzir efeitos benéficos à saúde, não só animal, como humana (Laganá, 2014).

Alguns estudos com espécies da família Myrtaceae foram utilizados como alimentos e/ou aditivos na alimentação de aves entre os quais está o estudo de Lira et al. (2009) que avaliaram o desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte e concluíram ser possível adicionar até 12% de inclusão na dieta de resíduo de goiaba sem comprometer o desempenho.

Oliveira (2016) estudou codornas japonesas de postura e observou que a inclusão de extrato de goiaba não influenciou o consumo de ração, percentagem de postura, massa de ovos por dúzia e conversão por dúzias de ovos. No entanto, a conversão por massa de ovos apresentou melhora linear com o aumento dos níveis.

Em um estudo de substituição do milho pelo resíduo da industrialização da goiaba (casca, sementes e polpa, provenientes da industrialização da goiaba para suco) Camelo et al. (2015) reportaram que o resíduo da industrialização da goiaba pode ser incluído em até 10% nas dietas de codornas europeias sem comprometimento do desempenho e características de carcaça das aves.

Salvador (2008), avaliou a inclusão de resíduos de goiaba na alimentação de frangos de corte e concluiu que a inclusão de resíduo de goiaba afetou positivamente o consumo de ração e ganho de peso das aves. Costa et al. (2015a) observaram que a inclusão (até 8%) de diferentes níveis de resíduo de goiaba na alimentação de frangos de corte não causou prejuízo ao desempenho das aves e contribuiu para a redução dos custos de produção.

Moreira et al. (2017) suplementaram poedeiras comerciais com jabuticaba (até 0,11%) e não verificaram diferenças na estabilidade oxidativa de ovos armazenados. Já em estudo realizado com codornas de postura em pico de produção suplementadas com 0,9% de extrato de goiaba, os resultados indicaram melhor capacidade antioxidante em gema de ovos armazenados por 27 dias (Oliveira, 2016).



#### **4 MANUSCRITO**

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de manuscrito, com sua formatação de acordo com as orientações a revista ao qual será submetido:

#### 4.1 MANUSCRITO

### **ADDITION OF ARAÇA LEAF EXTRACT (*Psidium cattleianum* SABINE) IN THE DIET OF LAYING HENS: IMPACTS ON BIRD HEALTH AND EGG QUALITY**

Ariane F. A. dos Santos<sup>a</sup>, Aleksandro S. Da Silva<sup>b</sup>, Gabriela M. Galli<sup>a</sup>, Eduarda B. Paglia<sup>c</sup>,  
Marina V. Dacoreggio<sup>c</sup>, Aniela P. Kempka<sup>c</sup>, Carine F. Souza<sup>d</sup>, Matheus D. Baldissera<sup>d</sup>,  
Gilneia da Rosa<sup>a</sup>, Marcel M. Boiago<sup>b</sup>, Diovani Paiano<sup>b</sup>

De acordo com normas para publicação em:

Animal Feed Science and Technolog

1   **ADDITION OF ARAÇA LEAF EXTRACT (*Psidium cattleianum* SABINE) IN THE  
2   DIET OF LAYING HENS: IMPACTS ON BIRD HEALTH AND EGG QUALITY**

4           Ariane F. A. dos Santos<sup>a</sup>, Aleksandro S. Da Silva<sup>b</sup>, Gabriela M. Galli<sup>a</sup>, Eduarda B. Paglia<sup>c</sup>,  
5           Marina V. Dacoreggio<sup>c</sup>, Aniela P. Kempka<sup>c</sup>, Carine F. Souza<sup>d</sup>, Matheus D. Baldissera<sup>d</sup>,  
6           Gilneia da Rosa<sup>a</sup>, Marcel M. Boiago<sup>b</sup>, Diovani Paiano<sup>b</sup>

7  
8           <sup>a</sup> Graduate Program in Animal Science, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC),  
9           Chapecó, Brazil.

10          <sup>b</sup> Department of Animal Science, UDESC, Chapecó, Brazil.

11          <sup>c</sup> Graduate Program in Food Science and Technology, UDESC, Pinhalzinho, Brazil.

12          <sup>d</sup> Graduate Program in Pharmacology, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria,  
13           Brazil.

14          Corresponding author: Rua Beloni Trombeta Zanin 680E - Bairro Santo Antônio - Chapecó –  
15           SC–Brasil. CEP:89.815-630. E-mail: [diovani.paiano@udesc.br](mailto:diovani.paiano@udesc.br)

16  
17          **Highlights:**

- 18          - Supplementation with araçá leaf extract improved the health of laying hens.
- 19          - There was an approximately four-fold increase in total antioxidant capacity of egg yolks  
20           from chickens that consumed extracts from araçá leaves.
- 21          - Consumption of araçá leaf extract reduced lipid peroxidation of eggs stored for four weeks.
- 22          - There was a reduction of about 50% in *Escherichia coli* and total coliform counts in the egg  
23           shells of the hens that consumed the extract.

24 **Abstract.** The aim of this study was to determine the effects of the inclusion of araçá leaf extract  
25 (ALE) as an additive in laying diets on productive performance, immunity, metabolism, and  
26 antioxidant response of birds, as well its effects on egg quality. The experiment lasted 28 days;  
27 there was a completely randomized design of five treatments with various levels of ALE (0.0,  
28 0.05, 0.10, 0.15, and 0.20/kg feed), four repetitions per treatment, and three birds per repetition  
29 (cage). Blood samples were collected on days 1 and 28 for hematological and biochemical  
30 evaluations. Fresh eggs stored for four weeks were used to analyze physicochemical, and  
31 microbiological properties, as well as oxidative and antioxidant status. The laying rate in the  
32 hens did not differ among treatments with varying levels of ALE. The addition of increasing  
33 levels of ALE linearly reduced total bacterial count (TBC) in feces. The number of total  
34 leukocytes was lower in the blood of chickens that consumed araçá extract due to the lower  
35 number of heterophiles, eosinophils and lymphocytes. The inclusion of ALE in the diet  
36 stimulated the activity of glutathione S-transferase and reduced serum lipid peroxidation (LPO)  
37 levels. A linear effect in the fresh eggs of the chickens that consumed ALE was observed, that  
38 is, we recorded lower TBC and *Escherichia coli* counts in the shells, as well as greater total  
39 antioxidant capacity (ACAP) in the yolk. In eggs stored for four weeks, we found lower  
40 albumen pH and lower LPO of yolks when the birds consumed ALE, associated with greater  
41 specific gravity of the egg and ACAP levels of the yolks. Taken together, these results suggest  
42 that the inclusion of ALE in laying hen feed had anti-inflammatory effects, providing  
43 antioxidant responses and antimicrobial activity. The consumption of ALE by the laying hens  
44 did not affect zootechnical performance, while improving the health of the birds. The  
45 conclusion of this study was that the inclusion of araçá leaf extract produced better quality eggs,  
46 characterized by internal oxidative stability and less bacterial contamination in the shell, both  
47 of which desirable effects from the standpoint of the consumer.

48

49 **Keywords:** Antibacterial activity. Antioxidant activity. Vegetable extract. Phytonic.

50    **1 INTRODUCTION**

51

52    Raising laying hens requires efficient strategies for maintaining egg production. Because  
53    of advances in genetic improvement, nutrition and health control, birds now show better feed  
54    conversion, faster metabolism, and greater longevity. Nevertheless, the increase in the  
55    production of layers, associated with the challenge of production systems, can trigger metabolic  
56    diseases (Costa et al., 2015) and may impair immune responses (Da Silva et al., 2013). In these  
57    situations, pathogenic microorganisms may harm the birds. In laying poultry, antibiotics are  
58    only used for the treatment of sick animals, because their residues remain in the egg; for this  
59    reason, it is desirable to use natural additives with antimicrobial properties to include in the diet  
60    as prophylactics.

61    Another challenge for laying poultry is the deterioration of eggs during storage. Eggs are  
62    usually stored at room temperature, often in environments with high thermal amplitudes  
63    throughout the day. It is known that high temperature reduces the shelf life of foods such as  
64    eggs. On the other hand, dietary addition of additives with antioxidant properties can minimize  
65    these negative effects (Galli et al., 2018). For this reason, several investigators have tested  
66    natural alternatives, aiming to reduce the challenge to birds and to increase the useful life of  
67    their eggs (Alves, 2017).

68    Among the options for additives are herbal extracts, of which *araçazeiro* may be an option.  
69    Araça belongs to the Myrtaceae family and to the genus *Psidium*, a genus that has about 100  
70    species, including fruit-producing species, species used for ornamentation or for the production  
71    of wood. Another characteristic of the family is its medicinal properties (Brandão, 2002).  
72    *Araçazeiro* (*Psidium cattleianum* Sabine), a species native to Brazil, produces a yellow or  
73    reddish fruit, known as araca (Biegelmeyer et al., 2011). The use of the fruit and its leaf parts  
74    has already been registered as an adjunct in the treatment of cough and lung diseases (Gaetti-  
75    Jardim et al., 2011), anti-inflammatory, hemostatic (Machado et al., 2012) and peripheral  
76    analgesic action (Alvarenga et al., 2013) in addition to assisting in the reduction of cancer cells  
77    and metastasis control (Canova et al., 2002).

78    Therefore, the fruit and leaf parts have been the subject of several studies (Biegelmeyer et  
79    al., 2011; Egea and Pereira-Neto 2019), as they have a high content of phenolic compounds,  
80    flavonoids, carotenoids and have demonstrated good antioxidant capacity. An antimicrobial  
81    effect of the extract and araca oil on pathogenic bacteria, relevant to poultry farming, such as  
82    *Salmonella* spp. and *E. coli* (Dacoreggio et al., 2019; Garcia, 2018). These two properties

83 (antioxidant and antimicrobial) are desirable for layers, since these birds are in an accelerated  
84 metabolism (Da Silva et al., 2013).

85 Recently, our research group produced an extract of *Araçazeiro* leaves harvested in  
86 different seasons and observed that the extract has bioactive compounds, antioxidant,  
87 allelopathic and antimicrobial activity (Dacoreggio et al., 2019). Therefore, the objective with  
88 this study was to evaluate the effects of the inclusion of araçá leaf extract (ALE), as an additive  
89 in the laying hens feed on the productive performance, health and egg quality.

90

## 91 2 MATERIALS AND METHODS

92

### 93 2.1. ARAÇÁ LEAF EXTRACT

94

#### 95 2.1.1. Acquisition and preparation of extracts

96

97 The extract used was produced from araçá leaves (*Psidium cattleianum* Sabine), yellow  
98 morphotype, collected in the southern region of the State of Santa Catarina, from December to  
99 March 2019, selected according to uniform coloring. Plant material with rot, lesions and/or  
100 defects was discarded. The vegetable material was cleaned with gauze moistened with distilled  
101 water and dried in a forced circulation oven with air at  $40 \pm 5$  °C, until achieving constant mass.  
102 After drying, the leaves were macerated manually, and sieved in an 8-mm screen, obtaining the  
103 sample for extraction.

104

105 For extraction, 0.5 grams of the sample were used, and 50 mL of distilled water was  
106 added. The mixture was placed in an ultrasound bath (70 W) for 3 hours and remained at rest,  
107 in the dark, for another 3 hours. The supernatants were filtered with quantitative filter paper  
108 (Whatman No. 40) and stored in 100 mL volumetric flasks wrapped in aluminum foil.  
109 Immediately after extraction, the extracts were stored in Eppendorf tubes and maintained frozen  
110 at –83 °C until use, never for more than 24 hours. Before use, the samples were thawed by  
lyophilization (Dacoreggio et al., 2019).

111

#### 112 2.1.2. Quantification of total phenolic compounds (TPC)

113

114 Quantification of TPC was performed using the Folin-Ciocalteu colorimetric method.  
115 An aliquot of each diluted sample was mixed with 0.5 mL of Folin-Ciocalteu solution and  
116 stirred for 1 minute. Two milliliters of sodium carbonate (20%) were added to the mixture and  
117 stirred for 30 s. After incubation for 2 h in the dark, the absorbance at 750 nm was read in

relation to a prepared blank. A standard curve was prepared using solutions of gallic acid in methanol. The concentration of total phenolic compounds in the extracts in gallic acid equivalents was determined using an equation obtained from the standard graph of gallic acid and expressed in mg of gallic acid equivalent per 100 g of dry sample (mg GAE/g). The data were presented as the mean of the analyses  $\pm$  SD of the triplicates (Bonoli et al., 2004; Shi et al., 2011).

124

125 **2.1.3. Determination of antioxidant activity by radical reduction (DPPH)**

126

127 The evaluation of the free radical scavenging activity of the extracts was based on the  
128 measurement of the antioxidant reduction capacity by the radical DPPH (2,2,2-diphenyl-1-  
129 picryl-hydrazyl). Five different dilutions of each extract were prepared in test tubes. Reaction  
130 mixtures were prepared from the diluted extracts. In a dark environment, 0.3 mL of each extract  
131 dilution in 2.7 mL of the DPPH radical (40  $\mu$ g/mL) were added to the test tubes. After  
132 incubation for 1 hour in the dark, the absorbance at 515 nm was read in relation to a prepared  
133 blank. The activity was expressed as the IC<sub>50</sub> value ( $\mu$ g/mL), defined as the concentration of  
134 the antioxidant needed to eliminate 50% of the DPPH present in the test solution. All tests were  
135 performed in triplicate and the IC<sub>50</sub> values were reported as means  $\pm$  SD of the triplicates  
136 (Brand-Williams et al., 1995; Shi et al., 2011).

137

138 **2.2. ANIMALS, INSTALLATION AND TREATMENTS**

139

140 The experiment was carried out in the south of Brazil (27°07'S; 52°37'W), in an  
141 experimental building, provided with curtains and ventilation to assist the climate control of the  
142 building. Temperatures and humidity were measured automatically at 30 'intervals by means of  
143 a data logger installed inside the shed and temperatures of  $19.99 \pm 5.13$  °C and relative humidity  
144  $58.11 \pm 11.58\%$  were recorded in the experimental period (Fig. 2).

145 Sixty commercial laying hens (Isa Brown), 45 weeks of age, were kept in sheds, housed  
146 in cages with three birds/cage, distributed in a completely randomized design, with five  
147 treatments and four repetitions per treatment. Each cage was defined as an experimental unit.

148 The light and feed program followed the recommendations for the breed (Hy-Line  
149 Brown laying hens, 2018) with water supplied ad libitum. The feed was formulated based on  
150 corn and soybean meal (Table 1) according to the nutritional composition of ingredients

proposed by Rostagno et al. (2017) to provide 11.93 MJ of metabolizable energy/kg, 42 g/kg of calcium, 3.1 g/kg of available phosphorus, 19 g/kg of sodium, 160 g/kg of crude protein; 7.7 g/kg digestible lysine, 76 g/kg digestible Met + Cys, 5.35 g/kg digestible methionine, 6.2 g/kg digestible threonine and 1.8 g/kg digestible tryptophan (Table 1). The treatments consisted of five levels of inclusion of extract of leaves of ALE (0.0; 0.05; 0.10; 0.15 and 0.20 g/kg of feed).

Samples of the diets were collected and frozen (-20 °C) until analysis. In the diets, the concentration of total phenolic compounds and antioxidant activity was also measured, based on the same methodologies described in section 2.1 of this manuscript for ALE leaves.

### 2.3. ZOOTECHNICAL PERFORMANCE AND EGG QUALITY

Egg production was recorded daily. Egg production was calculated as percentage at the end of the cycle. We recorded feed intake (g/bird/day) and average egg weights (average of eggs produced on days 26, 27 and 28). Egg mass (g/bird/day) obtained by the percentage of posture in relation to egg weight and feed conversion were expressed in two ways: kilogram of feed per kilogram of egg (kg/kg) and kilogram of feed per dozen eggs (kg/dz).

Eight eggs per group (two per repetition) were collected at the end of the cycle (days 28 and 29) for quality analysis. Eggs on day 28 were analyzed after laying (fresh eggs) and eggs on day 29 were analyzed after four weeks of storage (stored in a BOD oven programmed at 26 °C). In the fresh and stored eggs, the variables described below were measured.

The specific gravity of the eggs was determined according to the method of Freitas et al. (2004). Shell strength (kgf) was measured using a texture analyzer (TA.XTplus). Albumen height was measured using a micrometer (precision ± 0.01). Haugh units (HU) were calculated from albumen height and egg weight according to the following equation (Haugh, 1937): HU = 100 log (H + 7.57 - 1.7 W 0.37), where H is the height of the albumen (mm) and W is the weight of the egg (g). The yolk index was measured with a caliper as the ratio between height (mm) and yolk diameter (mm). Yolk color was determined using a colorimeter (Minolta CR-400) and the luminosity (L\*), red intensity (a\*) and yellow intensity (b\*) were recorded. The yolks were separated from the albumen and the egg shells were washed and dried in an oven. Then, the percentage of yolk, albumen and eggshell were obtained. The yolk and albumen pH were measured using a digital pH meter (Testo 205).

The total antioxidant capacity (ACAP) was determined by the method of Amado et al. (2009) with modifications for egg yolks recently described by Reis et al. (2019). The technique aims to determine the antioxidant capacity of the egg yolk using a fluorescent substrate (2', 7'

185 dichlorofluorescein diacetate-H<sub>2</sub>DCF-DA) and the production of peroxy radicals by thermal  
186 decomposition of 2,2'-azobis 2 methylpropionamidine dihydrochloride. Fluorescence was  
187 determined using a microplate reader (Spectramax I3) at 37 °C (excitation: 485 nm; 530 nm)  
188 with readings every 5 min, for 30 min.

189 Levels of lipid peroxidation (LPO) were measured in the yolk samples diluted in cold  
190 methanol (1: 1 v/v) and centrifuged at 1000 x g for 10 min. at 4 °C (Monserrat et al., 2003; Reis  
191 et al., 2019). LPO levels were measured in supernatants using a microplate reader at 550 nm,  
192 with cumene hydroperoxide as standard.

193 The total bacterial counts, as well as *E. coli* and total coliform counts in eggshells were  
194 performed in fresh eggs collected on day 28. One gram of each eggshell was aseptically  
195 weighed, then homogenized in 9 mL of buffered peptide water in a test tube. sterile with the  
196 use of a vortex shaker with a 10<sup>-1</sup> dilution. Then, 1 mL of the dilution of the eggshell samples  
197 were inoculated in Placa3M™ Petrifilm™ EC, and 200 µL in a petri dish previously prepared  
198 with Standard Counting Agar (PCA). Subsequently, the plates were incubated in a  
199 bacteriological oven at 37 °C for 48 hours and then the colony-forming units (CFU/g) were  
200 counted.

201

## 202 2.4. HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL VARIABLES IN BLOOD OF BIRDS

203

### 204 2.4.1 Sample collection

205

206 Blood collections (1 mL) were performed on days 1 and 28 of the experimental period,  
207 by puncture the brachial vein of six birds per treatment. The collected samples were placed in  
208 tubes with anticoagulant (EDTA) for hematological analysis and in tubes without  
209 anticoagulants followed by centrifugation at 3,500 rpm for 10 minutes, later stored frozen (at –  
210 20 °C) until biochemical analyses were carried out.

211

### 212 2.4.2 Leukogram

213

214 The total leukocyte count followed the methodology of Natt and Herrick (1951). Blood  
215 smear slides were produced and stained (Rapid Panoptic kit) for differential leukocyte counts  
216 (Lucas; Jamroz, 1961).

217

218

219 **2.4.3. Clinical serum biochemistries**

220

221 Levels of alanine aminotransferase (ALT) and triglycerides, cholesterol, uric acid, total  
222 protein, albumin and serum glucose were evaluated using commercial kits (Analisa®) in a semi-  
223 automatic analyzer (BioPlus 2000). Levels of globulin were calculated based on the difference  
224 between the levels of total protein and albumin.

225

226 **2.4.4 Oxidant and antioxidant status**

227

228 LPO levels were measured in serum samples according to the method described by  
229 Monserrat et al. (2003). Glutathione peroxidase (GPx) activity was measured indirectly by  
230 monitoring the oxidation rate of NADPH at 340 nm with copper hydroperoxide (CuOOH),  
231 according to Wendel (1984). Glutathione S-transferase (GST) activity was determined by  
232 spectrophotometry according to the method described by Habig et al. (1974).

233

234 **2.5. TOTAL BACTERIAL COUNTS (TBC) IN BIRD FECES**

235

236 Samples were collected after being excreted by the hens (pooled feces per cage). After  
237 collection, samples were refrigerated and processed immediately after the collection was  
238 completed.

239 We aseptically weighed feces, then homogenized them in 9 mL of buffered peptide  
240 water in a sterile test tube using a vortex shaker in a  $10^{-1}$  dilution. Then, the samples were  
241 diluted to  $10^{-6}$ . Aliquots of 1 mL of the dilution was inoculated into 3M™ Petri film™ EC  
242 Plates, and 200  $\mu$ L were placed on petricom plate count agar plates for TBC. Subsequently,  
243 they were incubated in a bacteriological oven at 37 °C for 48 hours, after which colony-forming  
244 units (CFU/g) were counted.

245

246 **2.6. STATISTICAL ANALYSIS**

247

248 The data were subjected to the Shapiro–Wilk normality test ( $\alpha > 0.05$ ) and transformed  
249 if necessary. Biochemical analyses, total bacterial count of eggs and feces, LPO, GST, *E. coli*,  
250 yolk and albumen pH, specific gravity of the egg and dozens did not show normality and were  
251 transformed using Box-Cox or Johnson methods. Normalized data were subjected to analysis  
252 of variance with  $\alpha < 0.05$  as the difference between treatments.

253 Linear and quadratic regression models were used to select the predictive model that  
254 best fit the average values, so as to estimate the behaviors or the inclusion points that gave the  
255 best responses of laying hens, by deriving the equations to calculate the maximization points.  
256 The least squares method was used to calculate the coefficients of the regression models and  
257 the verification of the significance of each coefficient was assessed by the t-test  $\alpha < 0.05$ . The  
258 Scott-Knott test (1974) was applied to the means; significant differences were defined as  $\alpha$   
259  $< 0.05$ .

260

### 261 3. RESULTS

262

#### 263 3.1. ZOOTECHNICAL DESIGN

264

265 The laying rate, feed conversion, feed intake and egg mass did not differ ( $P > 0.05$ )  
266 between treatments (Table 2).

267

#### 268 3.2. LEUKOGRAM AND SERUM BIOCHEMISTRIES

269

270 The serum hematological and biochemical variables did not differ between groups ( $P$   
271  $> 0.05$ ) at the beginning of the experiment (day 1). At 28 days, there was a lower number of  
272 total leukocytes in the blood of the chickens that consumed feed supplemented with ALE,  
273 accounted for by a reduction in lymphocyte and neutrophil counts ( $P < 0.05$ ). There was a  
274 reduction of counts of neutrophil and eosinophils that was linear with the inclusion of ALE ( $P$   
275  $< 0.05$ ). The number of leukocytes and lymphocytes showed quadratic effects, with the  
276 minimum points estimated for the levels of 0.197 and 0.191 g of ALE/kg of feed, respectively.  
277 The levels used did not influence monocyte concentrations ( $P > 0.05$ ) (Table 3).

278

279 Serum levels of glucose, total protein, albumin, globulin, triglycerides, cholesterol, uric  
acid, and ALT did not differ between treatments ( $P > 0.05$ ) at 28 days (Table 4).

280

#### 281 3.3. SERUM LEVELS OF ANTIOXIDANT ENZYMES AND LIPOPEROXIDATION

282

283 We observed lower levels of LPO in the serum of birds with higher levels of extract  
284 supplementation, while GST activity was higher ( $P < 0.05$ ). There was a linear reduction ( $P$   
285  $< 0.05$ ) in lipid peroxidation in the serum of birds with the increased inclusion of ALE in the  
286 diet. GST enzyme activity showed a quadratic effect ( $P < 0.05$ ), with a maximum inclusion point

287 up to the level of 0.130 g/kg of ALE (Table 5). The levels of extract used did not influence the  
288 activity of GPx ( $P >0.05$ ) on day 28 of the experiment.

289

290 3.4. BACTERIAL COUNTS IN FECES

291

292 The increased inclusion of ALE decreased bacterial counts in the bird feces in a linear  
293 fashion ( $P <0.05$ ) (Table 6).

294

295 3.5. EGG QUALITY

296

297 3.5.1. Fresh eggs

298

299 There was no difference ( $P >0.05$ ) between treatments for the variables of specific  
300 gravity, Haugh unit, yolk index, egg shell strength, shell thickness, yolk percentage, shell  
301 percentage, albumen percentage, pH and staining (Tables 7 and 8).

302

303 Levels of LPO in the egg yolk did not differ, but there was a tendency of reduction ( $P$   
304 = 0.058), since the concentration of ACAP in the yolk was higher in supplemented birds' eggs.  
305 The levels of extract used increased linearly ( $P <0.05$ ) the total antioxidant capacity  
306 in the egg yolk.

307

308 The TBC and *E. coli* counts in the eggshell were lower ( $P <0.05$ ) (linear reduction)  
309 when the chickens were supplemented with ALE (Table 6). The number of total coliforms did  
310 not differ between treatments ( $P >0.05$ ).

311

312 3.5.2. Stored eggs

313

314 In stored eggs, we identified a difference between groups for the variables of albumen  
315 pH and specific gravity. There was a linear reduction ( $P <0.05$ ) of the albumen pH and a linear  
316 increase ( $P <0.05$ ) of the specific gravity of the stored eggs (Tables 7 and 8) with the increase  
317 in the levels of ALE in the feed. The other variables did not differ among treatments ( $P >0.05$ ).

318

319 LPO levels in the egg yolk were lower, and the concentration of ACAP in the yolk was  
320 higher in supplemented birds' eggs (Table 9). The levels of extract used increased the total  
321 antioxidant capacity in the egg yolk in linear fashion ( $P <0.05$ ). The LPO in the stored eggs was  
322 better estimated using a quadratic model ( $P <0.05$ ), with an LPO reduction down to the level of  
323 0.13 g ALE/kg (Table 9).

321   **4. DISCUSSION**

322  
323       The addition of ALE in the feed of laying hens did not affect zootechnical performance,  
324 suggesting that there was no toxicity of the extract used up to the level of 0.2 g/kg of feed. The  
325 laying rate of birds in peak production, greater than 90% at the beginning of the experiment  
326 was not altered by inclusion of the extract and it remained above 91% throughout the  
327 experimental period. It should be noted that the absence of negative effects on productive  
328 performance has also been reported in birds when fed with extracts from plants of the same  
329 family (Myrtaceae), such as: guava extract (*Psidium guajava*) in the feeding of Japanese quails  
330 in peak posture (Oliveira 2016), jaboticaba extract (*Plinia cauliflora*) for laying hens (Moreira  
331 et al. 2017) and jambolão leaf extract (*Syzygium cumini*) in laying hens (Freitas et al., 2017).

332       The reduction in the number of total leukocytes in the blood of birds (due to the  
333 reduction of lymphocytes, neutrophils, and eosinophils) was expected, because the ALE is  
334 known for its antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial properties. The phenolic and  
335 flavonoid compounds present in araçá leaves (Biegelmeyer et al., 2011) protect cells by  
336 stimulating immune components such as lymphocytes and macrophages (Franchini et al., 1991)  
337 and by modulating inflammatory responses.

338       Flavonoids inhibit the proliferation of T lymphocytes, the production of pro-  
339 inflammatory cytokines, and they also modulate the activity of important enzymes in the  
340 metabolic pathways (Cazarolli et al., 2008; Trueba; Sánchez, 2001). They inhibit the pathways  
341 of the enzyme cyclooxygenase (COX), which plays a fundamental role as an inflammatory  
342 mediator (Simões et al., 1998). Its antioxidant function is also associated with the inflammatory  
343 response, because its compounds also inhibit the COX enzyme, which is involved in the release  
344 of arachidonic acid that participates in the formation of leukotrienes. This in turn is the starting  
345 point for the inflammatory response (Queiroz et al., 2014).

346       In addition to the antioxidant and anti-inflammatory activities of the bioactive  
347 compounds present in ALE, its antibacterial potential culminated in the reduction of total  
348 leukocyte counts, because they reduced the challenge to the health of the chickens (manifested  
349 as the reduction of the total bacterial count) which also may have contributed to results. It is  
350 important to note that intensive production and/or bioclimatic conditions can also compromise  
351 or over-activate the immune system. During the experimental period, large thermal amplitude  
352 was observed (Figure 1) that may have compromised the health of the birds such that the use  
353 of ALE may have been positive in the sense that it minimized these stressful effects.

354 Lower lipid peroxidation and higher serum GST activity in chickens fed various levels  
355 of extract suggest an increase in positive antioxidant responses. The medicinal and biological  
356 properties of the fruits of the Myrtaceae family are well described in the literature, with special  
357 emphasis on antioxidant activity (Ames et al., 1993; Lobo et al., 2010), manifesting as  
358 inhibition of lipid peroxidation, with anti-inflammatory effects (Loguérion et al., 2005). These  
359 beneficial effects were transferred to the eggs, that showed better quality after storage,  
360 manifested as lower lipoperoxidation levels and greater total antioxidant capacity of the yolks.

361 The inclusion of ALE in laying hens decreased total bacterial counts in their feces. The  
362 antimicrobial activity that plant extracts exert has an impact on the health and quality of the  
363 final product (eggs). There are several mechanisms by which the compounds present in ALE  
364 act on the microorganisms, among which are that phenolic compounds inhibit nucleic acid  
365 synthesis in gram-negative and gram-positive bacteria (Cushnie and Lamb, 2005).

366 A study conducted with ALE demonstrated antimicrobial activity against both gram-  
367 negative and gram-positive bacteria, including *E. coli* (Dacoreggio et al., 2019). Potential  
368 antibacterial activity against *E. coli* was also observed in a study with *Melaleuca alternifolia*,  
369 known as tea tree, also belonging to the Myrtaceae family (Kulkarni et al., 2012). This reduction  
370 in bacterial contamination in the intestines of chickens probably had a positive influence on the  
371 external quality of the eggs, that is, it reduced the counts of pathogenic bacteria on the surface  
372 of the eggs with the inclusion of the extract.

373 In stored eggs of chickens that consumed ALE, greater specific gravity and lower  
374 albumen pH were observed, associated with lower lipid peroxidation levels. These results are  
375 probably associated one another, because the greater internal stability of the egg caused by the  
376 greater total antioxidant capacity minimized the process of natural deterioration in stored eggs,  
377 a product that normally remains commercially available for 30 days. This means that if  
378 producers can use ALE in laying hens, they can improve the maintenance of egg quality, mainly  
379 during storage. Similar results were obtained in a study of eggs of quails that were supplemented  
380 with 0.9% guava extract (Oliveira, 2016). However, Moreira et al. (2017) supplemented  
381 commercial laying hens aged 45 weeks for 28 days with standardized extract of jaboticaba (up  
382 to 0.11%) and found no differences in the oxidative stability of stored eggs.

383 Our results regarding antioxidant capacity were expected, because the content of  
384 phenolic compounds in araçá fruits is higher than that found in plants of the same family, as in  
385 guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) (Paulino et al., 2019), and up to six times greater than  
386 that of guava (Faller, Fialho, 2009; Kuskoski et al., 2005).

387 Our results suggest less deterioration of the eggs attributable to ALE, because they  
388 conferred greater specific gravity (indicative of better shells and smaller air chambers). In  
389 general, the results suggest to that ALE is an excellent food additive for laying hens.

390

## 391 CONCLUSION

392

393 The addition of ALE in laying hen feed did not affect the zootechnical performance of  
394 the birds, but it exerted anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial effects. We also  
395 conclude that the consumption of araçá leaf extract by the chickens improves the quality of the  
396 eggs, characterized by internal oxidative stability (greater antioxidant capacity and less lipid  
397 peroxidation) and less bacterial contamination in the shell.

398

## 399 Ethics committee

400

401 This work was approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA) of the State  
402 University of Catarina (UDESC), protocol number 3024030419.

403

## 404 Conflict of interest

405

406 The authors declare no conflicts of interest

407

## 408 Acknowledgements

409

410 We are grateful to the Program for the Improvement of Higher Education Personnel -  
411 Brazil (CAPES) – Finance Code 001.

412 **REFERÊNCIAS**

413

414 Alvarenga, F. Q., Mota, B. C., Leite, M. N., Fonseca, J. M., Oliveira, D. A., Royo, V. De A.,  
415 Silva, M. L., Esperandim, V., Borges, A., Laurentiz, R. S., 2013. In vivo analgesic activity,  
416 toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium*  
417 *cattleianum* Sabine. **J. ethnopharmacol.** 150, 280–284.  
418

419 Alves, M. G. M., 2017. Aditivos melhoradores de desempenho na alimentação de poedeiras  
420 comerciais. **Nutritime Rev. Elet.** 13, 1-8.  
421

422 Amado, L. L., Garcia, L. L., Ramos, P. B., Freitas, R. F., Zafalon, B., Ferreira, J. L. R.,  
423 Monserrat, J. M. 2009. A method to measure total antioxidant capacity against peroxyl radicals  
424 in aquatic organisms: Application to evaluate microcystins toxicity. **Sci. Total Environ.** 407,  
425 2115-2123.  
426

427 Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative  
428 diseases of aging. **PNAS** 90, 7915-7922.  
429

430 Biegelmeyer, R., Andrade, J. M. M., Aboy, A. L., Apel, M. A., Dresch, R. R., Marin, R.,  
431 Raseira, M. C. B., Henriques, A. T. 2011. Comparative analysis of the chemical composition  
432 and antioxidant activity of red (*Psidium cattleianum*) and yellow (*Psidium cattleianum* var.  
433 lucidum) strawberry guava fruit. **J. Food Sci.** 76, C991-C996.  
434

435 Bonoli, M., Verardo, V., Marconi, E., Caboni, M. F. 2004. Antioxidant phenols in barley  
436 (*Hordeum vulgare* L.) flour: Comparative spectrophotometric study among extraction methods  
437 of free and bound phenolic compounds. **J. Agric. Food Chem.**, 52, 2195–5200.  
438

439 Brandão, M., Laca-Buendía, J. P., Macedo, J. F. 2002. **Árvores nativas e exóticas do Estado**  
440 **de Minas Gerais**. 1ª Edição. Belo Horizonte, MG: EPAMIG, 528p  
441

442 Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate  
443 antioxidant activity. **LWT – Food Sci. Technol.** 28, 25–30.  
444

445 Canova, G. C., Taveira, L. A. A., Dezan Junior, E., Nishiuama, C. K., Spalding, M. 2002.  
446 Estudo do poder flogógeno de quatro cimentos obturadores de canais radiculares por meio do  
447 teste edemogênico. **Rev. Fac. Odontol.** 10, 128-133.  
448

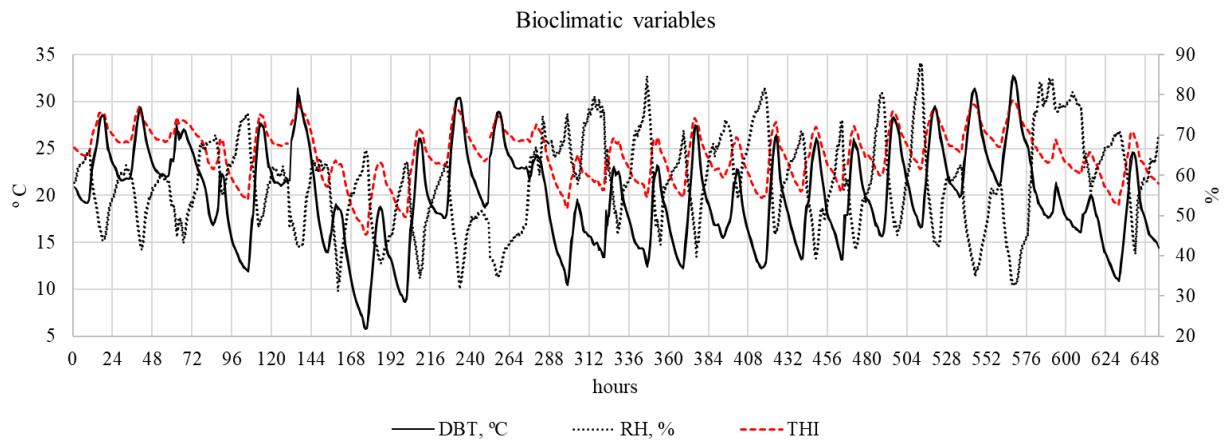
449 Cazarolli, L. H.; Zanatta, L.; Alberton, E. H., Figueiredo, M. S. R. B. 2008. Flavonoids:  
450 prospective drug candidates. **Mini-Rev. Med. Chem.** 8, 1429-1440.  
451

- 452 Costa, F. G. P., Pinheiro, S. G., Lima, M. 2015. Exigências de aminoácidos para poedeiras. 29º  
453 Reunião do CBNA – Congresso sobre nutrição de aves e suínos 29, 1-3.  
454
- 455 Cushnie, T. P., Lamb, A. J. 2005. Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane  
456 damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. **J. Ethnopharmacol.** 101,  
457 243–248.  
458
- 459 Da Silva, S. R. G., Lopes, J. B., Almendra, S. N. De O., Costa, E. M., 2013. Fundamentos da  
460 imunonutrição em aves. **Rev. Elet. Nutritime**10, 2154-2172.  
461
- 462 Dacoreggio, M. V., Moroni, L. S., Kempka, A. P. 2019. Antioxidant, antimicrobial and  
463 allelopathic activities and surface disinfection of the extract of *Psidium cattleianum* Sabine  
464 leaves. **Biocatal. Agric. Biotechnol.** 21, 101295.  
465
- 466 Egea, M. B., Pereira, Netto, A. B. 2019. Bioactive compound-rich, virtually unknown, edible  
467 fruits from the Atlantic Rainforest: changes in antioxidant activity and related bioactive  
468 compounds during ripening. **Eur. Food Res. Technol.** 245, 1081–1093.  
469
- 470 Faller, A. L. K., Fialho, E. 2009. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças  
471 consumidas no Brasil. **Rev. Saúde Pública** 43, 211-218.  
472
- 473 Franchini, A., Canti, M., Manfreda, G., Bertuzzi, S., Asdrubali, G., Franciosi, C. 1991. Vitamin  
474 E as adjuvant in emulsifiesvaccine for chiks. **Poult. Sci. J.** 70, 1709-1715.  
475
- 476 Freitas, E. R., Fernandes, D. R., Souza, D. H., Dantas, F. D. T., Santos, R. C., Oliveira, G. B.,  
477 Cruz, C. E. B., Braz, N. M., Câmara, L. F., Nascimento, G. A. J., Watanabe, P. H. 2017. Effect  
478 of *Syzygium cumini* leaves on laying hens performance and egg quality. **Anais Acad. Bras.**  
479 Ciênc. 89, 2479-2484.  
480
- 481 Freitas, E. R., Sakomura, N. K., Gonzales, M. M., Barbosa, N. A. A. 2004. Comparação de  
482 métodos de determinação da gravidade específica de ovos de poedeiras comerciais. **Pesq.**  
483 **Agrop. Bras.** 39, 509-512.  
484
- 485 Gaetti-Jardim, J. R. E., Landucci, L. F., Arafat, O. K. K., Ranieri, R. V., Ramos, M. M. B.,  
486 Ciesielski, F. I. N., Schweitzer, C. M., Okamoto, A. C. 2011. Antimicrobial activity of six plant  
487 extracts from the Brazilian savanna on periodontal pathogens. **Int. J. Odontostomat.**5, 249-  
488 256.  
489
- 490 Galli, G. M., Da Silva, A. S., Biazus, A. H., Reis, J. H., Boiago, M. M., Topazio, J. P.,  
491 Migliorini, M. J., Guarda, N. S., Moresco, R. N., Ourique, A. F., Santos, C. G., Lopes, L. S.,

- 492 Baldissera, M. D., Stefani, L. M. 2018. Feed addition of curcumin to laying hens showed  
493 anticoccidial effect, and improved egg quality and animal health. **Res. Vet. Sci.**,118, 101-106.  
494
- 495 Garcia, M. O. 2018. Atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de araçá (*Psidium*  
496 *cattleianum* S.) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.) sobre patógenos de origem alimentar. 92f.  
497 **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação  
498 em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.  
499
- 500 Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B. 1974. Glutathione S-transferases: the first enzymatic  
501 step in mercapturic acid formation. **J. Biol. Chem.** 249, 7130-7139.  
502
- 503 Haugh, R. R. 1937. A new method for determining the quality of an egg. US Egg **Poultry** 39,  
504 27-49.  
505
- 506 Kulkarin, A. 2012. Monitoring of antimicrobial effect of GC-MS standardized *Melaleuca*  
507 *alternifolia* oil (tea tree oil) on multidrug resistant uropathogens. Int. **J. Pharm. Biol. Sci.** 2, 1-  
508 5.  
509
- 510 Kuskoski, E. M., Asuero, G. A., Troncoso, A. M., Mancini Filho, J., Fett, R. 2005. Aplicación  
511 de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos.  
512 **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 25, 726-732.  
513
- 514 Lobo, V. Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., 2010. Free Radicals, antioxidantes and functional  
515 foods: Impact in Human Health. **Phcog.net** 4, 118-126.  
516
- 517 Loguério, A. P., Battistin, A., Vargas, A. C., Henzel, A., Witt, M. N. 2005. Atividade  
518 antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* L. Skells).  
519 **Ciênc. Rural** 35, 371-376.  
520
- 521 Lucas, A. M., Jamroz, C. 1961. Atlas of Avian Hematology. Agriculture Monography 25.  
522 United States **Department of Agriculture**, Washington.  
523
- 524 Machado, A. C., Dezan Junior, E., Gomes-Filho J. E., Cintra L. T. A., Ruviere, D. B, Zoccal,  
525 R., Damante, C. A., Gaetti J.J. 2012. Evaluation of tissue reaction to Aroeira (*Myracrodruonu*  
526 *rundeuva*) extracts: a histologic and edemogenic study. **J Apply Oral Sci.** 20, 414-418.  
527
- 528 Monserrat J. M., Geracitano L. A., Pinho G. L. L., Vinagre T. M., Faleiros M., Alciati J. C.,  
529 Bianchini A. 2003. Determination of lipid peroxides in invertebrates using the Fe (III) xylenol  
530 orange complex formation. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 45, 177–183.  
531

- 532 Moreira, J. Da S., Noleto, R. A., Martins, P. C., De Lima, C. B., Racanicci, A. M. C., Stringini,  
533 J. H. 2017. Extrato padronizado de jaboticaba na alimentação de poedeiras comerciais.  
534 **Avicultura Industrial** 10, 40-42.
- 535 Natt, M.P., Herrick, L. 1951. A new blood diluente for counting the erythrocytes and leucocites  
536 of chickens. **Poult. Sci. J.** 31, 182-188.  
537
- 538 Oliveira, H. D. 2016. Extrato do resíduo do processamento da goiaba na alimentação de  
539 codornas japonesas. 2016. **Dissertação** (Programa de Pós-Graduação em Zootécnica) -  
540 Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia.  
541
- 542 Paulino, A. H. S., Viana, A. M. F., Bonomo, L. F., War, J. F. C., Lopes, J. M. M., Rabelo, A.  
543 C. S., Fagundes, M. M. A., Régis, A. L. R. S., Lima Pedrosa, W. G. L., Silva, M. E. 2019. Araçá  
544 (*Psidium cattleianum* Sabine) ameliorates liver damage and reduces hepatic steatosis in rats fed  
545 with ahigh-fat diet. **J. Food. Nutr. Res.** 7, 132- 140.  
546
- 547 Queiroz, A. C., Alves, H. D. S., Cavalcante-Silva, L. H. A., Dias, T. D. L. M. F., Santos, M. D.  
548 S., Melo, G. M. D. A., Alexandre-Moreira, M. S. 2014. Antinociceptive and antiinflammatory  
549 effects of flavonoids PMT1 and PMT2 isolated from *Piper montealegreanum* Yuncker  
550 (Piperaceae) in mice. **Nat. Prod. Res.** 28, 403-406.  
551
- 552 Reis, J. H., Gebert, R. R., Fortuoso, B. F., Dos Santos, D. F., Souza, C. F., Baldissera, M. D.,  
553 Boiago, M. M., Paiano, D., Da Silva, A. S. 2019. Selenomethionine as a dietary supplement for  
554 laying hens: impacts on lipid peroxidation and antioxidant capacity in fresh and stored eggs. **J.**  
555 **Food Biochem.** 43, 12957.  
556
- 557 Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hannas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura, N. K., Perazzo, F.  
558 G., Brito, C. O., 2017. **Tabelas Brasileira para aves e suínos:** Composição de alimentos e  
559 exigências nutricionais (p. 488). Viçosa, Brazil: Departamento de Zootecnia –UFV.  
560
- 561 Scott, A. J., Knott M. 1974. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of  
562 variance. **Biometrics** 12, 507-512.  
563
- 564 Shi, Y., Xu, Y., Hu, H., Na, Z., Wang W. 2011. Preliminary assessment of antioxidant activity  
565 of young edible leaves of seven *Ficus* species in the ethnic diet in Xishuangbanna, South west  
566 China. **Food Chem.** 128, 889-894.  
567
- 568 Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Bauer, L., Langeloh, A., 1988. Pharmacological  
569 Investigations on *Achyrocline Satureioides* (Lam.) DC., composital. **J. Ethnopharmacol.** 22,  
570 282-293.  
571

- 572 Trueba, G. P., Sánchez, G. M. 2001. Los flavonoides como antioxidants naturals. **Acta Farm.**  
573 **Bonaerense** 20, 297-306.  
574  
575 Wendel, A., Fausel, M., Safayhi, H., Ties, G., Otter, R. A novel biologically active seleno-  
576 organic compound-II: Activity of PZ 51 in relation to Glutathione Peroxidase. **Biochem.**  
577 **Pharmacol.** 33, 3241-3245.  
578  
579



580

581      Figure 2 - Dry bulb temperature (DBT), Relative humidity (RH) and Temperature and humidity index (THI):  
582      TBS + (0.36 \* Dew point + 41.5).

583 **Table 1.** Ingredients, calculated nutritional levels and antioxidant levels analyzed from experimental diets for  
 584 laying hens supplemented with araçá leaf extract (ALE).

<b>Ingredients, g/kg</b>	<b>Levels of inclusion of ALE in the rations, g/kg</b>				
	<b>Control</b>	<b>0.05</b>	<b>0.10</b>	<b>0.15</b>	<b>0.20</b>
Ground corn	609	609	609	609	609
Soybean flour	240	240	240	240	240
Limestone	102	102	102	102	102
Soybean oil	24.6	24.6	24.6	24.6	24.6
Bicalcium phosphate	11.9	11.9	11.9	11.9	11.9
Table salt	4.36	4.36	4.36	4.36	4.36
DL-methionine	3.17	3.17	3.17	3.17	3.17
L-threonine	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
L-lysine HCL	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
L-tryptophan	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
Vitamin supplement <sup>1</sup>	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Mineral supplement <sup>2</sup>	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Araçazeiro leaf extract	0.00	0.05	0.10	0.15	0.20
<b>Analyzed composition<sup>3</sup></b>					
TPC. mg de GAE/g	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.03
Antioxidant activity DPPH IC <sub>50</sub> µg/mL	642 ± 17.5	309 ± 42.4	451 ± 0.1	484 ± 21.4	405 ± 25.7

585 <sup>1</sup>Vitamin supplement for laying hens, minimum content per kg of product: Vitamin A 11,000,000 IU; Vitamin  
 586 D3 2,500,000 IU; Vitamin E 300,000 IU; Vitamin K3 3000 mg; Vitamin B1 2,000 mg; Vitamin B2 5,000 mg;  
 587 Vitamin B6 3,000 mg; Folic acid 1000 mg; Nicotinic acid 35 g; Pantothenic acid 12 g; Biotin 15 mg.  
 588 <sup>2</sup>Supplement of micro minerals for laying hens, minimum content per kg of product: Fe 50 g; Cu 10 g; Co 200 g;  
 589 I 1000 mg; Se 300 mg; Mn 70 g; Zn 65 g.

590 <sup>3</sup>Extracts obtained from araçá leaves (TPC = 101 ± 0.2 mg de GAE. g<sup>-1</sup> and IC<sub>50</sub>= 37.3 ± 0.9 µg. mL<sup>-1</sup>), Total  
 591 phenolic content (TPC) and antioxidant activity DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). GAE (gallic acid  
 592 equivalent).

594  
595**Table 2.** Daily feed intake (FI), feed conversion ratio (FC) per mass and per dozen eggs, percentage of laying and egg mass (EM) of laying hens fed different levels ALE.

<b>Level g/kg</b>	<b>FI, g/animal/d</b>	<b>EM, Kg</b>	<b>Laying, %</b>	<b>FC/m, kg/kg</b>	<b>FC/dz, kg/dozen</b>
Control	112 ± 2.78	4.74 ± 0.18	94.9 ± 2.25	1.99 ± 0.06	1.42 ± 0.05
0.05	117 ± 8.18	4.39 ± 0.44	95.5 ± 3.93	2.05 ± 0.09	1.48 ± 0.06
0.10	113 ± 1.81	4.50 ± 0.30	91.3 ± 3.28	2.12 ± 0.16	1.49 ± 0.07
0.15	115 ± 0.72	4.68 ± 0.16	95.8 ± 1.54	2.07 ± 0.07	1.45 ± 0.02
0.20	115 ± 1.74	4.68 ± 0.23	95.2 ± 1.94	2.08 ± 0.10	1.46 ± 0.02
<b>Qualitative analysis</b>					
P-value	0.29	0.40	0.18	0.51	0.39

596  
597

598  
599  
600**Table 3.** Leukogram of laying hens fed various levels of araçá leaf extract (ALE), samples collected on the 28<sup>th</sup> day of the experiment.

<b>Level, g/kg</b>	<b>Leukocytes /µL</b>	<b>Neutrophils /µL</b>	<b>Lymphocytes /µL</b>	<b>Monocytes /µL</b>	<b>Eosinophils /µL</b>
Control	7383 ± 674 <sup>a</sup>	2002 ± 128 <sup>a</sup>	4861 ± 609 <sup>a</sup>	521 ± 177	504 ± 144 <sup>a</sup>
0.05	5880 ± 669 <sup>b</sup>	1640 ± 392 <sup>b</sup>	3897 ± 405 <sup>b</sup>	342 ± 316	307 ± 140 <sup>b</sup>
0.10	4867 ± 524 <sup>c</sup>	1053 ± 385 <sup>c</sup>	3502 ± 510 <sup>b</sup>	312 ± 227	282 ± 48 <sup>b</sup>
0.15	4650 ± 404 <sup>c</sup>	1378 ± 471 <sup>b</sup>	2875 ± 416 <sup>c</sup>	398 ± 141	244 ± 153 <sup>b</sup>
0.20	4150 ± 536 <sup>c</sup>	813 ± 394 <sup>c</sup>	2963 ± 606 <sup>c</sup>	374 ± 92	168 ± 117 <sup>b</sup>
<b>Qualitative analysis</b>					
P-value	<0.001	<0.001	<0.001	0.285	0.004
<b>Quantitative analysis</b>					
Linear =	<0.001	<0.001	<0.001	na	<0.001
Quadratic =	<0.001	0.210	<0.001	na	0.132

601 Different letters in the same column differ by the Scott-Knott test (P&lt;0.05). na (not analyzed).

602 Leukocytes = 79712X<sup>2</sup> – 31363X + 7329.3 (R<sup>2</sup> 0.802).603 Neutrophils = 1905.42-5281.12X (R<sup>2</sup> 0.462).604 Lymphocytes = 4853.59-20286.00X+53123.4X<sup>2</sup> (R<sup>2</sup> 0.670).605 Eosinophils = 452.81-1494.04X (R<sup>2</sup> 0.414).606  
607

608  
609**Table 4.** Serum biochemistry of laying hens fed various levels of araça leaf extract (ALE), on day 28 of the experiment.

Level, g/kg	GLU, mg/dL	TP, g/dL	ALB, g/dL	GLO, g/dL	CHOL, mg/dL	TRIG, mg/dL	UA, mg/dL	ALT, U/L
Control	157±23.9	5.8±0.7	2.1±0.1	3.6±0.6	70.6±10.1	952±113	2.8±1.1	1.7±1.2
0.05	184±20.4	7.9±6.6	2.1±0.2	5.8±6.4	84.8±23.8	938±161	3.0±0.5	3.2±3.9
0.10	178±20.5	5.5±0.3	1.9±0.3	3.9±0.8	77.4±23.1	928±118	3.2±0.7	2.6±1.7
0.15	167±20.3	6.0±2.0	1.8±0.7	4.3±1.4	86.3±39.1	1015±34	2.7±0.9	2.8±1.8
0.20	168±2.9	5.8±1.3	2.0±0.3	3.8±1.5	94.2±28.3	975±67	3.6±1.0	3.6±1.9
<b>Quantitative analysis</b>								
P-value	0.288	0.996	0.431	0.961	0.697	0.785	0.542	0.839

610 Glucose (GLU); Total protein (TP); Albumin (ALB); Globulin (GLO); Cholesterol (CHOL); Triglycerides  
611 (TRIG); Uric acid (UA); and alanine aminotransferase (ALT).

612

613

614      **Table 5.** Serum lipid peroxidation (LPO) levels and activities glutathione S-transferase (GST) and glutathione  
 615      peroxidase (GPx) in laying hens fed various levels of extract of leaves of araça leaf extract (ALE) for 28 days.

Level g/kg	DAY 0			DAY 28		
	LPO nmol/mL	GST U/mg	GPx U/mg	LPO nmol/mL	GST U/mg	GPx U/mg
Control	355±271	14.9±1.42	0.98±0.47	656±232 <sup>a</sup>	10.5±2.16 <sup>c</sup>	1.13±0.83
0.05	593±245	15.4±2.35	1.60±0.66	563±152 <sup>a</sup>	13.6±1.33 <sup>c</sup>	0.73±0.29
0.10	511±334	19.1±5.77	1.84±1.83	549±268 <sup>a</sup>	26.6±5.48 <sup>a</sup>	0.75±0.36
0.15	313±219	24.0±7.11	1.43±1.13	316±133 <sup>b</sup>	19.9±8.27 <sup>b</sup>	1.17±0.37
0.20	354±210	19.5±5.66	1.36±0.47	224±81.5 <sup>b</sup>	19.2±5.45 <sup>b</sup>	0.85±0.58
<b>Qualitative</b>						
P-value	0.512	0.070	0.717	0.004	<0.001	0.451
<b>Quantitative</b>						
Linear =	Na	na	na	<0.001	0.010	na
Quadratic =	Na	na	na	0.447	0.001	na

Different letters in the same column differ by the Scott-Knott test ( $P<0.05$ ). na (not analyzed).

LPO(28) = 683.2599-2210.94355X ( $R^2$  0.405).

GST(28) = 9.31532+205.3514X-791.614X $^2$  ( $R^2$  0.375).

616

617

618

619

620

621      **Table 6.** Total bacterial count (TBC). *Escherichia coli* and total coliforms (TC) in fresh chicken eggs and total  
 622      bacterial count in feces of hens fed with various levels of araçá leaf extract (ALE) for 28 days.

<b>Level</b> g/kg	Egg shell bacterial count *			Fecal bacterial count**
	<b>CBT.</b> UFC/mL	<i>Escherichia coli.</i> UFC/mL	<b>Total coliforms</b> UFC/mL	<b>TBC feces</b> UFC/mL
Control	155 ± 79.2 <sup>a</sup>	15.5 ± 5.24 <sup>a</sup>	24.3 ± 9.63	160 ± 46.2 <sup>a</sup>
0.05	145 ± 120 <sup>a</sup>	18.0 ± 6.66 <sup>a</sup>	19.8 ± 8.33	145 ± 36.3 <sup>a</sup>
0.10	44.1 ± 17.1 <sup>b</sup>	9.83 ± 3.54 <sup>b</sup>	18.2 ± 6.34	145 ± 33.9 <sup>a</sup>
0.15	84.0 ± 35.8 <sup>a</sup>	10.8 ± 5.12 <sup>b</sup>	14.3 ± 7.63	134 ± 12.1 <sup>a</sup>
0.20	51.3 ± 15.7 <sup>b</sup>	7.67 ± 1.37 <sup>b</sup>	12.5 ± 6.28	109 ± 7.7 <sup>b</sup>
<b>Qualitative analysis</b>				
P=	<0.001	0.001	0.100	0.006
<b>Quantitative analysis</b>				
Linear =	0.005	0.001	na	0.002
Quadratic =	0.1867	0.3900	na	0.237

\*Dilution 10<sup>-1</sup>; \*\*Dilution 10<sup>-6</sup>. na (not analyzed).

Different letters in the same column differ by the Scott-Knott test (P<0.05).

TBC = 149.83 -538.3X ( $R^2$  0.218).

ECOLI = 16.933 -45.66X ( $R^2$  0.289).

TBC feces = 161.08-223.2X ( $R^2$  0.202).

623

624

625

626

627

628

629 **Table 7.** Results obtained from the yolk and albumen pH of fresh eggs and stored for 28 days of laying hens fed  
 630 various levels of araca leaf extract (ALE).

<b>Level g/kg</b>	<b>pH fresh egg</b>		<b>pH stored egg</b>	
	<b>Yolk</b>	<b>Albumen</b>	<b>Yolk</b>	<b>Albumen</b>
Control	6.36 ± 0.49	8.56 ± 0.10	5.90 ± 0.09	9.21 ± 0.07 <sup>a</sup>
0.05	6.66 ± 1.02	8.46 ± 0.19	5.95 ± 0.08	9.19 ± 0.03 <sup>a</sup>
0.10	5.98 ± 0.21	8.37 ± 0.22	6.14 ± 0.18	9.17 ± 0.04 <sup>a</sup>
0.15	5.88 ± 0.10	8.34 ± 0.32	5.96 ± 0.18	9.15 ± 0.04 <sup>b</sup>
0.20	5.99 ± 0.17	8.29 ± 0.27	5.97 ± 0.12	9.13 ± 0.03 <sup>b</sup>
<b>Qualitative analysis</b>				
P-value	0.280	0.220	0.186	<b>0.024</b>
<b>Quantitative analysis</b>				
Linear =	na	na	na	<0.001
Quadratic =	na	na	na	0.457

631 Different letters in the same column differ by the Scott-Knott test (P<0.05). na (not analyzed).  
 632 albumen pH (stored egg) = 9.2049 - 0.3672X ( $R^2$  0.283)

633  
634 **Table 8.** Results obtained for the following analyses: specific gravity (SG); Haugh unit (HU); yolk index (YI); eggshell strength (ES/gf); shell thickness (SC); yolk percentage  
635 (YP); percentage of shell (SP); percentage of albumen (PA); brightness (L\*); intensity of red (a\*); and yellow intensity (b\*) in fresh eggs and stored for 28 days of laying hens fed different levels of araca leaf extract.

Level g/kg	SG	HU	YI	ES	SC, mm	SP, %	PA, %	PA, %	L*	a*	b*
<b>Fresh eggs</b>											
Control	1.089±0.006	97.4±2.83	0.47±0.02	3699±143	0.36±0.03	27.1±2.41	9.94±0.92	62.9±3.05	59.6±1.45	-5.51±0.61	48.5±2.32
0.05	1.087±0.005	93.1±6.21	0.48±0.03	3679±395	0.36±0.03	25.7±2.90	9.43±0.81	64.8±2.50	58.6±4.56	-5.02±0.69	47.4±5.37
0.10	1.086±0.005	95.9±4.00	0.47±0.03	3456±378	0.36±0.02	25.7±1.02	9.76±0.70	64.5±1.43	58.2±2.39	-5.17±0.58	45.9±3.64
0.15	1.084±0.007	97.2±3.23	0.47±0.06	3687±560	0.34±0.04	26.7±1.87	9.29±0.75	64.0±2.11	59.2±3.65	-4.97±1.10	46.7±16.65
0.20	1.086±0.005	92.4 ± 3.51	0.48±0.03	3618 ±195	0.35±0.03	25.6 ± 2.10	8.89 ± 1.02	65.5 ± 2.70	60.1±1.40	-5.03±0.70	49.6 ± 2.32
P-value	0.563	0.057	0.940	0.671	0.792	0.546	0.138	0.319	0.725	0.615	0.188
<b>Stored eggs</b>											
Control	1.024±0.017 <sup>b</sup>	45.3±9.99	0.25±0.04	5210±1244	0.35±0.03	31.5±3.11	10.7±0.98	57.7±3.31	59.6±6.87	-4.95±1.55	61.4±7.27
0.05	1.013±0.011 <sup>b</sup>	36.2±8.58	0.24±0.01	4965±1193	0.36±0.01	32.0±3.19	10.9±0.56	63.3±14.50	59.0±3.50	-4.82±0.93	57.2±6.61
0.10	1.037±0.021 <sup>a</sup>	42.2±10.40	0.24±0.02	5143±1205	0.36±0.03	28.7±1.25	10.6±0.77	60.6±1.39	65.3±3.96	-4.08±1.72	60.2±4.02
0.15	1.028±0.017 <sup>b</sup>	37.6±16.70	0.24±0.02	4971±719	0.35±0.03	30.4±2.48	10.6±1.00	58.9±3.01	62.2±3.53	-5.08±1.46	61.5±7.63
0.20	1.041±0.015 <sup>a</sup>	31.9±13.68	0.24±0.02	4402±626	0.35±0.02	29.9±0.53	10.3±0.91	59.2±0.71	64.4±4.04	-5.32±1.36	64.4±4.26
P=	0.013	0.456	0.766	0.559	0.548	0.180	0.973	0.356	0.100	0.627	0.378
<b>Quantitative analysis</b>											
Linear	0.014	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na

636 Different letters in the same column differ by the Scott-Knott test (P<0.05). Specific gravity = 1.0188+0.098X ( $R^2$  0.125). na (not analyzed).

637  
638**Table 9.** Lipid peroxidation (LPO) activities and total antioxidant capacity (ACAP) in fresh and stored egg yolk for 28 days of laying hens fed various levels of extract of araçá leaves (ALE).

Level g/kg	Fresh eggs		Stored eggs	
	LPO, nmol/mL	ACAP, U.F./mg protein	LPO, nmol/mL	ACAP, U.F./mg protein
Control	265 ± 83.5	0.33 ± 0.11 <sup>b</sup>	401 ± 97.3 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.12 <sup>e</sup>
0.05	125 ± 110	1.01 ± 0.96 <sup>a</sup>	135 ± 86.7 <sup>b</sup>	0.41 ± 0.10 <sup>d</sup>
0.10	239 ± 145	0.98 ± 0.46 <sup>a</sup>	82.6 ± 17.1 <sup>c</sup>	0.65 ± 0.10 <sup>c</sup>
0.15	191 ± 54.7	1.10 ± 0.44 <sup>a</sup>	162 ± 40.9 <sup>b</sup>	0.80 ± 0.10 <sup>b</sup>
0.20	170 ± 69.0	1.18 ± 0.30 <sup>a</sup>	149 ± 55.1 <sup>b</sup>	1.10 ± 0.11 <sup>a</sup>
<b>Qualitative analysis</b>				
P-value	0.058	0.022	<0.001	<0.001
<b>Quantitative analysis</b>				
Linear =	na	0.004	<0.001	<0.001
Quadratic =	na	0.070	<0.001	0.115

639 Different letters in the same column differ by the Scott-Knott test ( $P<0.05$ ). na (not analyzed).640 ACAP (fresh eggs) =  $0.55865 + 3.61167X$  ( $R^2 0.169$ ).641 LPO (eggs at 28 days of storage) =  $383.36 - 4548.52X + 17526.10X^2$  ( $R^2 0.671$ ).642 ACAP (eggs at 28 days of storage) =  $0.22325 + 4.19233X$  ( $R^2 0.915$ )



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de extrato de folhas de araçá como aditivo na alimentação de aves poedeiras por um período de 28 dias não afetou o desempenho produtivo das aves, teve efeito positivo sobre a saúde das aves e qualidade dos ovos.

Os resultados sugerem resposta antiinflamatória celular, isto é, inibição da produção de leucócitos. O efeito antioxidante do extrato de folhas de araçazeiro apresentou efeitos positivos sobre o status antioxidantas sérico das aves e posteriormente na gema do ovo. Além disso, os ovos tiveram menor peroxidação lipídica e maior estabilidade no armazenamento.

Concluímos também que o consumo de extrato de folhas de araçazeiro pelas galinhas tem efeito antimicrobiano no intestino das aves, o que resultou em uma menor contaminação da casca dos ovos pela bactéria patogênica responsável por causar a colibacilose em animais e humanos e confirmamos que presença dos compostos antioxidantas nas rações melhora a saúde intestinal das aves.

Portanto, novos estudos com foco no desempenho zootécnico a longo prazo devem ser realizados, pois como o consumo de extrato de folhas de araçazeiro teve efeitos benéficos a saúde das aves e qualidade dos ovos, não podemos descartar efeitos indiretos da suplementação, isto é, aves mais saudáveis produzirão mais em períodos maiores de uso.



## REFERÊNCIAS

ABPA 2019 - Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório anual. Disponível em <<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2019.pdf>>. Acesso em: 14 de jan. de 2020.

Adebajo, C., Oloki, K. J., Aladesanmi, A. J. Antimicrobial activity of the leaf and extract of *Eugenia uniflora*. **Phytotherapy Research**, v. 36, p. 258-259, 1989.

Adrian, J. A. L., Arancon, N. Q., Mathews, B. W., & Carpenter, J. R. Mineral composition and soil-plant relationships for common Guava (*Psidium guajava* L.) and yellow strawberry Guava (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) tree parts and fruits. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 46, p. 1960–1979, 2015.

Al-Obaidi, M. M. J., Al-Bayaty, F. H., Al-Batran. R., Hassandarvish, P., Rouhollahi, E. Protective effect of ellagic acid on healing alveolar bone after tooth extraction in rat – A histological and immunohistochemical study. **Archives of Biology**, v.59, n. 9, p. 987-999, 2014.

Alvarenga, F. Q., Mota, B. C. F., Royi, V. A., Laurentiz, R. S., Menezes, E. V. In vitro antimicrobial activity of leaves of araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) against oral micro-organisms. **Revista Odontologia UNESP**, Araraquara, v. 45, p. 149-153, 2016.

Alvarenga, F. Q., Mota, B. C., Leite, M. N., Fonseca, J. M., Oliveira, D. A., Royo, V. De A., Silva, M. L., Esperandim, V., Borges, A., Laurentiz, R. S. In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.150. p. 280–284, 2013.

Applegate, T. J., Klose, V., Steiner, T., Ganner, A., Schatzmayr, G. Probiotics and phytogenics for poultry: Myth or reality? **Journal of Applied Poultry Research**, v.19, n.2, p.194–210, 2010.

Biegelmeyer, R., Andrade, J. M. M., Aboy, A. L., Apel, M. A., Dresch, R. R., Marin, R., Raseira, M. C. B., Henriques, A.T. Comparative Analysis of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Red (*Psidium cattleianum*) and Yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) Strawberry Guava Fruit. **Journal of Food Science**, v. 76, 2011.

Camelo, L. C. L., Lana, G. R. Q., Santos, M. J. B., Camelo, Y. A. R. P., Marinho, A. L., Rabello, C. B. V. Inclusão de farelo de goiaba na dieta de codornas europeias. **Ciencia animal Brásileira**, v. 16, p. 343-49, 2015.

Camilo, D. R., Borges, J. S., Silva, P. H. M., Brito, J. O. Estudo da influência do grau de maturação das folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook na produção de óleo essencial. **Anais..São Paulo: USP**, 2004.

Canova, G. C., Taveira, L. A. A., Dezan Junior, E., Nishiuama, C. K., Spalding, M. Estudo do poder flogógeno de quatro cimentos obturadores de canais radiculares por meio do teste edemogênico. **Revista Faculdade Odontologia**, Bauru, v.10, p.128-133, 2002.

Castro, M. R., Victoria, F. N., Oliveira, D. H., Jacob, R. G., Savegnago, L., Alves, D. Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: Antioxidant and antifungal activity. **Pharmaceutical Biology**, Pelotas, v. 53, p. 242 – 250, 2014.

Costa, F. G. P., Pinheiro, S. G., Lima, M. Exigências de aminoácidos para poedeiras. **29º Reunião do CBNA** – Congresso sobre nutrição de aves e suínos, v. 29, p 1-3, 2015.

Costa, M, N, F. Desempenho de frangos de corte de crescimento lento alimentados com resíduos de frutas tropicais. In: Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia CONTECC, Fortaleza, **Anais**, 2015a.

Cushnie, T. P., Lamb, A. J. Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 243–248, 2005.

Dacoreggio, M. V., Moroni, L. S., Kempka, A. P. Antioxidant, antimicrobial and allelopathic activities and surface disinfection of the extract of *Psidium cattleianum* sabine leaves. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21, p. 101295, 2019.

Dalvi, L. T. Estudo da capacidade antioxidante do polifenol ácido elágico in vitro e em *Saccharomyces cerevisiae* selvagem e deficiente em superóxido dismutase 1. **Tese (Doutorado)**. Universidade de Brasília. Pós-graduação em Nutrição Humana pela Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. BRASÍLIA, 2014.

Di Stasi, L. C., Hiruma-Lima, C. A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. São Paulo: UNESP, 326p., 2002.

Fernandes, P. R. D., Bizerra, A. M. C. Quantitative evaluation of antioxidant activities of native plants of the Alto Oeste. **Research, Society and Development**, v. 9, n.1, ed. 48911578, 2020.

Fetter, M. da R., Vizzotto, M.; Corbelini, D. D.; Gonzales, T. N. Propriedades Funcionais de Araçá-Amarelo, Araçá-Vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e Araçá-Pera (*P. acutangulum* D.C.) cultivados em Pelotas/RS. **Braz. Journal Food Technology**. Pelotas, v. 15, p. 92-95, 2010.

Fichi, G., Flamin,i G., Giovanelli, F., Otranto, D., Perrucci, S. Efficacy of an essential oil of *Eugenia caryophyllata* against *Psoroptes cuniculi*. **Experimental Parasitology**, v.115(2), p.168–172, 2007.

Gaetti-Jardim, J. R. E., Landucci, L. F., Arafat, O. K. K., Ranieri, R. V., Ramos, M. M. B., Ciesielski, F. I. N., Schweitzer, C. M., Okamoto, A. C. Antimicrobial activity of six plant extracts from the Brazilian savanna on periodontal pathogens. **International Journal Odontostomatology**, São Paulo, v. 5, p. 249-256, 2011.

Garcia, M. O. **Atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de araçá (*Psidium cattleianum* S.) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.) sobre patógenos de origem alimentar**. 2018. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

Gopalakrishnan, L.; Ramana, L. N.; Sethuraman, S.; Krishnan, U. M. Ellagic acid encapsulated chitosan nanoparticles as anti-hemorrhagic agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 215-221, 2014.

Gressler, E., Pizo, M. A., Morellato, L. P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.29, n.4, p.509-530, 2006.

Grover, J. K., Vats, V., Rathi, S. S. Anti-hyperglycemic effect of Eugenia jambolana and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73(3), p. 461–470, 2000.

Haas, L. I. R. **Caracterização físico-química, fitoquímica, atividade antioxidante in vitro e in vivo, e efeitos antiproliferativos de extratos de frutos do araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) e da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.)**. 2011. 109 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

Hall, N. T., Smoot, J. M., Knight, R. J., & Nagy, S. Protein and amino acid compositions of ten tropical fruits by gas-liquid chromatography. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 28, 1217–1221, 1980.

Hashemi, S. R.; Davoodi, H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. **Veterinary Research Communications**, Oxford, v. 35, p. 169–180, 2011.

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, 13, 572–584, 2002.

Im, I., Parque, K. R., Kim, S. M., Kim, C., Parque, J. H., Nam, D., Jang, H. J., Shim, B. S., Ahn, K. S., Mosaddik Um, Sethi, L., Cho, S. K., Ahn, K. S. The butanol fraction of guava (*Psidium cattleyanum* Sabine) leaf extract suppresses MMP-2 and MMP-9 expression and activity through the suppression of the ERK1/2 MAPK signaling pathway. **Nutrition and cancer**, v. 64, p. 255-266, 2012.

Kade, I. J., Ibukun, E. O., Nogueira, C. W., Rocha, J. B. T. Sundrying diminishes the antioxidative potentials of leaves of *Eugenia uniflora* against formation of thiobarbituric acid reactive substances induced in homogenates of rat brain and liver. **Experimental and Toxicologic Pathology**. v. 60(4-5), p.365–371, 2008.

Kasubuchi, M., Hasegawa, S., Hiramatsu, T., Ichimura, A., Kimura, I. Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, ans host metabolic regulation. **Nutrients**, v. 7, p. 2839-2849, 2015.

Koba, K., Yanagita, T. Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 8, p. 525–532, 2014.

Koriem, K. M. M., Arbid, M. S., Saleh, H. N. Antidiarrheal and protein conservative activities of *Psidium guajava* in diarrheal rats. **Journal of Integrative Medicine**, v. 17, p. 57-65, 2019.

Laganá, C. Utilização de aditivos fitogênicos na alimentação de poedeiras. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 11, n. 2, 2014.

Landrum, L. R.; Kawasaki, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil. An illustrate synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, New York, v.49, n.4, p. 508- 536, dez. 1997.

Larrosa, M.; García-Conesa, M. T.; Espín, J. C.; Tomás-Barberán, F. A. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 31, n. 6, p. 513-539, 2010.

Lee, J.; Koo, N.; Min, D. B. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 3, n. 1, p. 21–33, 2004.

Lin, C.C.; Lin, H.Y; Hsu, L.J. Degradation of ofloxacin using UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process in a large photoreactor. **Separation and Purification Technology**, v. 168, p. 57–61, 2016.

Lira, R. C., Rabello, C. B. V., Ferreira, P. V., Lana, G. R. Q., Lüdke, J. V., Dutra Junior, W. M. Inclusion of guava wastes in feed for broiler chickens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p. 2401-407, 2009.

Lobo, V. Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. Free Radicals, Antioxidantes and Functional Foods: Impact in Human Health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, p. 118-126, 2010.

Loguérion, A. P., Battistin, A., De Vargas, A. C., Henzel, A., Witt, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* L. Skells). **Ciência Rural**, v. 35, p. 371-376, 2005.

Lorenzi, H.; Bacher, L.; Lacerda, M.; Sartori, S. **Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas**. Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2006.

Lorenzi, H.; Souza, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil**. 3º ed. Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2001.

Lorenzi, H., Matos, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil – Nativas e Exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2008. 1120p.

Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., & Crozier, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 502, p. 496–502, 2003.

Marinho, J. B. M., De Arruda, A. M. V., Fernandes, R. T. V., Melo, A. Da Silva., De Souza, R. F., Dos Santos, L. O. G., De Figueirêdo, L. C., Fernandes, R. T. V., De Mesquita, A. C. Nunes. Uso da moringa na alimentação animal e humana: Revisão. **PUBVET**, v. 10, n.8, p.619-627, Ago., 2016.

Medina, A. L., Haas, L. I. R., Chaves, F. C., Salvador, M., Zambiazi, R. C., Da Silva, W. P., Nora, L., Rombaldi, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, p. 916–22, 2011.

Mehrzadi, S., Bahrami, N., Mehrabani, M., Motevalian, M., Mansouri, E., Goudarzi, M. Ellagic acid: A promising protective remedy against testicular toxicity induced by arsenic. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 103, p. 1464-1472, 2018.

Moreira, J. Da S., Noleto, R. A., Martins, P. C., De Lima, C. B., Racanicci, A. M. C., Stringini, J. H. Extrato padronizado de jaboticaba na alimentação de poedeiras comerciais. **Avicultura industrial**, nº10, p. 40-42, 2017.

Morton, J. F. Cattley Guava. In J. F. Morton (Ed.). *Fruits of warm climates*. Miami, United States: Creative Resource Systems Inc., p. 336-346, 1987.

Naczk, M., Shahidi, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, 1054, 95–111, 2004.

Oliveira, H. D. 2016. **Extrato do resíduo do processamento da goiaba na alimentação de codornas japonesas**. [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2016.

Pepato, M. T., Mori, D. M., Baviera, A. M., Harami, J. B., Vendramini, R. C., Brunetti, I. L. Fruit of the jambolan tree (*Eugenia jambolana* Lam.) and experimental diabetes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96(1-2), p. 43–48, 2005.

Patel, R., Dosi, R., Joshi, H., Sheth, S., Shah, P., Jasdanwala, S. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in Obesity. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 8, p. 62-66, 2014.

Paulino, A. H. S., Viana, A. M. F., Bonomo, L. F., War, J. F. C., Lopes, J. M. M., Rabelo, A. C. S., Fagundes, M. M. A., Régis, A. L. R. S., Lima Pedrosa, W. G. L., Silva, M. E. “Araçá(*Psidium cattleianum* Sabine) Ameliorates Liver Damage and Reduces Hepatic Steatosis in Rats Fed with aHigh-fat Diet.” **Journal of Food and Nutrition Research**, vol. 7, p.132- 140, 2019.

Pietta, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

Ponzilacqua, B., Lee, S. H. I., Zani, J. L., Rosim, R. E., Corassin, C. H., Oliveira, C. A. F. Efeitos Antimicrobianos In Vitro de Extratos de Folhas de Ervas Medicinais e Plantas Nativas Brasileiras. **Curr Agri Res**, v.6, 2018.

Ravi, K., Rajasekaran, S., Subramanian, S. Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43(9), p. 1433–1439, 2005.

Rai, L. K.; Prasad, P.; Sharma, E. Conservation threats to some important medicinal plants of the Sikkin Himalaia. **Biological Conservation**, v. 93 p. 27-33, 2000.

Raseira, M. C. B., Raseira, A. Contribuição ao Estudo do Araçazeiro, *Psidium cattleianum*. EMBRAPA – CPACT, 1996.

Ribeiro, A. B., Chisté, R. C., Freitas, M., Da Silva, A. F., Visentainer, J. V., & Fernandes, E. *Psidium cattleianum* fruit extracts are efficient in vitro scavengers of physiologically relevant reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**, 165, 140–148, 2014.

Salvador, E. L. **Desempenho de frangos de corte alimentados com resíduo da goiaba (*Psidium guajava* L.) e do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) no período de um a sete dias de idade.** 2008. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Zootecnia) Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, Alagoas, 2008.

Sangalli, J., Júnior, E. G. J., Bueno, C. R. E., Jacinto, R. C., Sivieri-Araújo, G., Filho, J. E. G., Cintra, L. T. A., Junior, E. D. Antimicrobial activity of *Pisidium cattleianum* associated with calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: na in vitro study. **Clinical Oral Investigations**, v. 22, p. 2273-2279, 2018.

Savoia, D. Plant-Derived Antimicrobial Compounds: alternatives to antibiotics. **Future Microbiol.** v. 7. n. 8, 2012.

Scur, M. C., Pinto, F. G. S., Pandini, J. A., Costa, W. F., Leite, C. W., Temponi, L. G. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of *Psidium cattleianum* Sabine. **Brazilian Journal of Biology**, v.76, n. 1, 2016.

Silva, N. A., Rodrigues, E., Mercadante, A.Z., Rosso, V.V. “Phenolic compounds and carote - noids from four fruits native from the Brazilian Atlantic Forest”. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, p. 5072-5084. 2014.

Simões, C.M. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Artmed; 2018.

Sobral, M., Proença, C., Souza, M., Mazine, F., Lucas, E. Myrtaceae: lista de espécies da Flora do Brasil. Rio de Janeiro: **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br>> Acesso em: 23 ago. 2019.

Tavares, W. D. S., Martin-Pastor, M., Tavares, A. G., Sousa, F. F. Biopharmaceutical Activities Related to Ellagic Acid, Chitosan, and Zein and Their Improvement by Association. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 12, p. 2970-2975, 2018.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. Phytochemical screening and extraction: A review. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v.1, p.98- 106, 2011.

Toledo, G. S. P., Costa, P. T. C., Silva, L. P., Pinto, D., Ferreira, P., Poletto, C. J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores,

adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.6, p.1760-1764, nov-dez, 2007.

Tonet, R. M., Silva, A. A., Pontara, L. P. Alimentos alternativos para aves e suínos em sistemas de produção com base agroecológica. **PUBVET**, v.10, p.628-635, 2016.

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. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 39, 44–84, 2007.

Vinholes, J., Lemos, G., Barbieri, R. L., Franzon, R. C., Vizzotto, M. In vitro assessment of the antihyperglycemic and antioxidant properties of araçá, butiá and pitanga. **Food Bioscience**, 19, 92–100, 2017.

Wan, J. K., Chu, W. L., Kok, Y. Y., Lee, C. S. Distribution of microplastics and nanoplastics in aquatic ecosystems and their impacts on aquatic organisms, with emphasis on microalgae. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. 237, pp. 133-158, 2018.

Windisch, W. M., Schedle, K., Plitzner, C., Kroismayr, A. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. **Journal Animal Science**, v. 86, p. 140-148, 2007.

Windisch, W., Kroismayr, A. The effect of phytobiotics on Performance and gut function in monogastrics. In: World Nutrition Forum. **Anais...**, p.85-90, 2006.

Yoshihara, D., Fujiwara, N., Suzuki, K. Antioxidantes: benefits and risks for long-term health. **Maturitas**, v. 67, p. 103-107, 2010.

## ANEXO 1 - CARTA DE APROVAÇÃO DO CETEA



**UDESC**  
UNIVERSIDADE  
DO ESTADO DE  
SANTA CATARINA

**LAGES**  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
AGROVETERINÁRIAS

**Comissão de Ética no  
Uso de Animais**

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Adição de extrato de folha de araçá na alimentação de galinhas poedeiras no pico e terço final de produção: efeitos sobre produção e qualidade de ovo", protocolada sob o CEUA nº 3024030419 (o 00007), sob a responsabilidade de **Aleksandro Schafer da Silva** - 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 12/04/2019.

We certify that the proposal "Addition of Araçá leaf extract in laying hens feeding at peak and final third of production: effects on egg production and quality", utilizing 128 Birds (128 females), protocol number CEUA 3024030419 (o 00007), under the responsibility of **Aleksandro Schafer da Silva** - 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 04/12/2019.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 04/2019 a 12/2019      Área: Zootecnia

Origem:	Hospital Veterinário do CAV/UDESC	sexos:	Fêmeas	Idade:	40 a 80 semanas	N:	128
Espécie:	Aves			Peso:	2500 a 3000 g		
Linhagem:	Hy Line Brown						

Local do experimento: O experimento vai ocorrer no setor de avicultura localizado na Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), em galolas com capacidade de 4 aves, totalizando dezessete galolas em cada etapa da experimentação.

Lages, 15 de abril de 2019

Marcia Regina Pfuetzenreiter  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof. Dr. Ubirajara Maciel da Costa  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

## ANEXO 2 – CADASTRO NO PATRIMÔNIO GENÉTICO



Ministério do Meio Ambiente

**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

**Comprovante de Cadastro de Acesso**

Cadastro nº A819771

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A819771**

Usuário: **Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC**

CPF/CNPJ: **83.891.283/0001-36**

Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**

Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

### Espécie

**Psidium cattleianum**

**Araçá amarelo**

### Fonte do CTA

**CTA de origem não identificável**

Titulo da Atividade: **Adição de extrato de folha de araçá na alimentação de galinhas poedeiras no pico e terço final de produção: efeitos sobre produção e qualidade de ovo**

### Equipe

**Aniela Pinto Kempka** Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

**Eduarda Baggio Paglia** Universidade do Estado de Santa catarina

**Diovani Paiano** Universidade do Estado de Santa catarina

**Aleksandro Schafer da Silva** Universidade do Estado de Santa catarina

**Marcel Manente Boiago** Universidade do Estado de Santa catarina

**Ariane Fortes Alfredo dos Santos**

Universidade do Estado de Santa catarina

**Marina Volpato Dacoreggio**

Universidade Federal de Santa Catarina

**Carine Freitas Souza**

Universidade do Estado de Santa catarina

**Gilneia da Rosa**

Universidade do Estado de Santa Catarina

**Karoline Wagner Leal**

Universidade do Estado de Santa Catarina

**Gabriela Miotto Galli**

Universidade do Estado de Santa Catarina

**Davi Fernando Alba**

Universidade do Estado de Santa Catarina