

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS- CCAE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

KATIUSSE DE NEGREIROS SILVA

**PROBIÓTICOS E EXTRATO PIROLENHOSO PARA CODORNAS JAPONESAS
EM POSTURA**

ALEGRE-ES

2020

KATIUSSE DE NEGREIROS SILVA

**PROBIÓTICOS E EXTRATO PIROLENHOSO PARA CODORNAS JAPONESAS
EM POSTURA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Geraldo de Vargas Junior.

ALEGRE-ES

2020

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

S586p Silva, Katiussi de Negreiros, 1994-
Probióticos e extrato pirolenhoso para codornas japonesas em postura / Katiussi de Negreiros Silva. - 2020.
48 f. : il.

Orientador: José Geraldo de Vargas Junior.
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Avicultura. 2. Coturnicultura. 3. Nutrição animal. I. Vargas Junior, José Geraldo de. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. III. Título.

CDU: 619

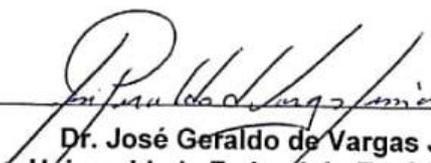
KATIUSSE DE NEGREIROS SILVA

**PROBIÓTICOS E EXTRATO PIROLENHOSO PARA CODORNAS JAPONESAS
EM POSTURA**

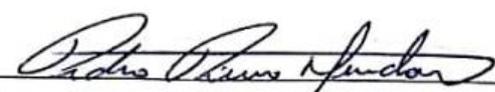
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Aprovado em 18 de Fevereiro de 2020.

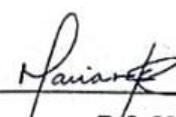
COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. José Geraldo de Vargas Junior
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Dr. Pedro Pierro Mendonça
Instituto Federal do Espírito Santo



Dr. Mariana Duran Cordeiro
Universidade Federal do Espírito Santo

DEDICATÓRIA

À Deus, por me dar força e sabedoria.

À minha família e amigos pelo apoio, amor, e momentos de alegria.

AGRADECIMENTOS

Ao autor da minha vida, sou ETERNAMENTE GRATA! Pois certamente que o seu amor, a sua graça são comigo onde quer eu vá, e suas promessas não são vazias.

Aos meus familiares, em especial ao meu pai Francisco José da Silva, minha mãe Sebastiana Aldineide de Negreiros Silva, e aos meus irmãos Kézia de Negreiros Silva e Zaquel de Negreiros Silva, que mesmo distantes fisicamente, sempre estiveram em oração por mim e foram minha real base. Agradeço também a Lislane de Souza Silva, que foi “um braço direito”, deu ombro amigo e sempre esteve presente, tornando o fardo mais leve.

Ao professor orientador José Geraldo de Vargas Junior, pela paciência, disponibilidade, amizade, apoio, e todo conhecimento repassado seja profissional e/ou de vida, tenho grande respeito e admiração.

À todos os amigos que fiz durante todo o período passado nesta instituição, e até os de longa data, que apesar de distantes, sempre permaneceram na torcida, meu muito obrigada, vocês são incríveis e foram fundamentais para fazer com que essa etapa se tornasse menos desgastante.

Aos estagiários do setor de Avicultura da UFES: Hugo, Jheyson, Ana Caroline, Hortência, Natália, Milene, João Victor, Pietro, Geysel, João Pedro, Hemanuely, Rayane, Mateus e Gleice, meu muito obrigada. Agradeço pelo companheirismo, pela responsabilidade e como sempre dizia: “Agora estamos em um relacionamento, a confiança, parceria e cumplicidade entre nós têm que existir”; e existiu, sem vocês, eu não teria conseguido.

À Universidade Federal do Espírito Santo pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação – Brasil (CAPES) - pela concessão da bolsa de estudo.

GRATIDÃO!

“Mas, pela graça de Deus, sou o que sou. E a sua graça para comigo não foi inútil; antes, trabalhei mais do que todos eles; todavia, não eu, mas a graça de Deus que vive em mim”.

I Coríntios 15:10

RESUMO

SILVA, KATIUSSE DE NEGREIROS. **PROBIÓTICOS E EXTRATO PIROLENHOSO PARA CODORNAS JAPONESAS EM POSTURA**. 2020. 48p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2020.

O uso de aditivos alimentares alternativos como os probióticos e o extrato pirolenhoso, tem sido utilizados, com a finalidade de substituir o uso de antibióticos na nutrição de aves e favorecer o desempenho animal. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o uso de probióticos e extrato pirolenhoso sobre o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de codornas japonesas em postura. O experimento foi conduzido no setor de avicultura da UFES – CCAE, com período experimental de 84 dias, divididos em quatro períodos de 21 dias. Foram utilizadas 486 codornas japonesas fêmeas, com 80 semanas de idade e peso médio inicial de 165g, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em seis tratamentos: T1 – Ração Basal (RB), T2 – RB + antibiótico (Enramax 8%®), T3 - RB + Extrato pirolenhoso (EPL), T4 - RB + probiótico (Protexin®), T5 - RB + probiótico (PAS-TR®), T6 – RB + probiótico (DBA®), nove repetições e nove aves/UE. As características avaliadas foram consumo de ração (g/ave/dia), taxa de postura (%), peso médio do ovo (g), massa de ovos comerciais (g/ave/dia), conversão alimentar por massa do ovo e por dúzia de ovos, peso absolutos (g) e relativos (%) de gema, albúmen e casca, índice de albúmen e de gema (%), matéria seca (%) das excretas e atividade de água (Aw) das rações. Foi observado efeito significativo para a variável PMO (g) nos tratamentos que receberam rações com diferentes aditivos. Houve alteração no CR, ao utilizar probiótico DBA. Observou ausência de efeito significativo dos tratamentos sobre o peso dos constituintes dos ovos (albúmen, gema e casca). Foi observada que a inclusão do aditivo EPL na ração das codornas japonesas, aumentou o IA dos ovos em comparação com os demais tratamentos. Para a variável MS, não foi encontrada efeito significativo ao incluir diferentes aditivos. Pelos resultados obtidos pode-se concluir que, o antibiótico pode ser substituído pelos probióticos e EPL em termos de desempenho e características de qualidade de ovos de codornas japonesas.

Palavras-chave: Avicultura. Coturnicultura. Nutrição animal

ABSTRACT

SILVA, KATIUSSE DE NEGREIROS. 2020. 48p. **PROBIOTICS AND PYROLIGNEOUS ACID FOR LAYING JAPANESE QUAILS.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2020.

The use of alternative food additives such as probiotics and pyroligneous acid has been used, with the purpose of replacing the use of antibiotics in poultry nutrition and favoring animal performance. Thus, the aim of the present study was to evaluate the use of probiotics and pyroligneous acid on the productive performance and quality of laying Japanese quail eggs. The experiment was conducted in the poultry sector at UFES - CCAE, with an experimental period of 84 days, divided into four periods of 21 days. 486 Japanese female quails, 80 weeks old and average initial weight of 165g, were used, distributed in a randomized design in six treatments: T1 - Basal Ration (RB), T2 - RB + antibiotic (Enramax 8%®), T3 - RB + Pyroligneous acid (EPL), T4 - RB + probiotic (Protexin®), T5 - RB + probiotic (PAS-TR®), T6 - RB + probiotic (DBA®), nine replicates and nine poultry/EU. The characteristics evaluated were feed intake (g/poultry/day), laying rate (%), average egg weight (g), commercial egg mass (g/ poultry /day), feed conversion by egg mass and by dozen eggs, absolute (g) and relative (%) weight of the yolk, albumen and shell, albumen and yolk index (%), dry matter (%) of the feces and water activity (Aw). A significant effect was observed for the variable PMO (g) in treatments that received diets with different additives. There was a change in the CR when using probiotic DBA. There was no significant effect of treatments on egg constituents (albumen, yolk and shell). It was observed that the inclusion of the additive EPL in the diet of Japanese quails increased the AI of the eggs in comparison with the other treatments. For the MS variable, no significant effect was found when including different additives. From the results obtained, it can be concluded that the antibiotic can be replaced by probiotics and EPL in terms of performance and quality characteristics of Japanese quail eggs.

Keywords: Poultry farming. Coturniculture. Animal nutrition.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos orgânicos encontrados no EPL e suas respectivas concentrações.....	19
Tabela 2 - Crescimento e produção de toxinas por microrganismos em função da atividade de água (A_w).....	22
Tabela 3 - Composição nutricional – Dieta basal para codornas em postura.....	24
Tabela 4 - Composição e níveis de garantia/kg do produto.....	25
Tabela 5 - Taxa de postura (TP) (%), peso médio dos ovos (PMO) (g), massa de ovos comerciais (MOC) (g/ave/dia) de codornas japonesas submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos.....	28
Tabela 6 – Consumo de ração (CR) (g/ave/dia), conversão alimentar (CA) (kg de ração/dúzia de ovos) e conversão alimentar (CA) (g de ração/g de ovo) de codornas japonesas submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos.....	30
Tabela 7 – Peso médio de ovo (PMO), peso absoluto (g) e relativo (%) de gema (PG), peso absoluto (g) e relativo de albúmen (PA) e peso absoluto (g) e relativo (%) de casca (PC) de codornas japonesas submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos.....	31
Tabela 8 – Peso médio de ovo (PMO) (g), índice de albúmen (IA) (%) e índice de gema (IG) (%) de codornas japonesas submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos.....	33
Tabela 9 – Teor de matéria seca (MS) (%) e matéria úmida (MU) (%) das excretas de codornas japonesas, e atividade de água (A_w) submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos.....	34

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1.ADITIVOS NA NUTRIÇÃO DE CODORNAS JAPONESAS E SUAS APLICAÇÕES.....	13
2.1.1. ANTIBIÓTICOS	14
2.1.2. PROBIÓTICOS.....	15
2.1.3. EXTRATO PIROLENHOSO	17
3. ATIVIDADE DE ÁGUA E SUAS APLICAÇÕES	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÃO	37
7. REFERÊNCIAS.....	38
ANEXO	48

1. INTRODUÇÃO

No Brasil a coturnicultura é atividade avícola em expansão, pois o volume de produção tanto de ovos quanto de carne tem aumentado de forma significativa. Diversos são os fatores que impulsionam e consolidam a coturnicultura, dentre eles estão as características genéticas, as melhorias no manejo sanitário e nutricional, bem como os aspectos bioclimáticos.

As codornas, são aves que apresentam alta prolificidade, longevidade, precocidade na maturidade sexual, e são aves de fácil manejo. Observa-se 6,5% de massa de ovo relativo ao peso corporal, com consumo médio de 25g de ração/ave/dia. Além disso produz acima de 300 ovos/ave/ano, impulsionando o seguimento no país.

Manter isso, é necessária nutrição adequada, uma vez que é peça chave na produção do animal. Embora consuma pouca quantidade de ração em gramas por ave dia, o consumo relativo ao peso corporal é alto, chegando a 16%. Isso faz com que o custo com a alimentação seja alto e conseqüentemente, qualquer alteração na alimentação da ave, tenha influência direta no sucesso nutricional e econômico da atividade.

Frente aos diversos desafios que a atividade pode enfrentar, o uso de agentes antimicrobianos adicionados intencionalmente nas rações tem sido utilizados, com a finalidade de favorecer o desempenho animal, reduzindo significativamente os efeitos dos diferentes desafios que os animais tenham no processo produtivo.

Por outro lado, com a crescente pressão dos consumidores por produtos isentos de aditivos melhoradores de desempenho como os antibióticos, a busca por aditivos alimentares alternativos como os probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, enzimas exógenas, extratos vegetais entre outros têm sido alvo de pesquisa com a finalidade de atender o mercado consumidor.

Desta forma, o objetivo do estudo foi avaliar o uso de probióticos e extrato pirolenhoso sobre o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de codornas japonesas em postura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ADITIVOS NA NUTRIÇÃO DE CODORNAS JAPONESAS E SUAS APLICAÇÕES

A consolidação da coturnicultura dá-se devido a evolução genética, bem como condições fisiológicas, melhorias nos manejos reprodutivos, sanitários e nutricionais. Uma vez que a genética vem sendo melhorada, são necessários ajustes na nutrição e no manejo para aproveitar o potencial do animal. Dentre os custos de produção inseridos na atividade, 70% destes são destinados à nutrição, sendo assim, qualquer desafio sanitário e nutricional pode comprometer todo ciclo produtivo (SILVA et al., 2012).

Dessa forma, o fornecimento de rações com níveis nutricionais que atendam às necessidades das codornas é essencial, para que as mesmas expressem de forma eficiente o seu potencial produtivo (SILVA et al., 2012). Deve-se então evitar o uso de rações normalmente utilizados para poedeiras ou frangos de corte, como costumeiramente são feitos (BARRETO et al., 2006; MALAGOLI, 2016). Silva e Costa (2009), e Jordão Filho *et al.* (2011) afirmam que as dietas e formulação de rações para codornas devem respeitar as exigências de cada linhagem e fase produtiva.

Durante décadas, o Brasil inseriu nas composições das dietas de aves, aditivos. De maneira geral, define-se por aditivos, substância, microrganismos ou produto formulado, adicionados intencionalmente às rações em pequenas quantidades, seguindo determinadas normas de uso, que possui função profilática e pró-nutricional, que não venha trazer prejuízos ao animal, e nem mesmo ao ser humano, sem deixar resíduos nos produtos finais destinados ao consumo (BRASIL, 2004; JUNQUEIRA; DUARTE, 2005).

Os aditivos podem ser divididos em três grupos, sendo estes classificados de acordo com o seu modo de ação e/ou característica funcional (ALVES, 2017; BRASIL, 2004). São eles:

- 1- Profiláticos: Têm a finalidade de prevenir possíveis enfermidades causadas por agentes patogênicos.
- 2- Coadjuvantes: Atuam sobre as características físicas dos ingredientes das rações, podendo alterar a cor, consistência, odor, conservação, entre outros.

3- Pró-nutriente: Favorecem a atuação de nutrientes dietéticos pelos animais, aumentando a eficiência produtiva.

É inquestionável a relação custo: benefício com a inclusão de antibióticos nas rações, com função promotora de crescimento. Porém, o mercado consumidor de produtos de origem animal tem intensificado as exigências para produtos sem o uso de antibióticos. Em razão disso, a indústria produtora busca de forma constante, alternativas por produtos similares, sem que o desempenho das aves seja afetado de forma significativa (LEMOS et al., 2016).

Por este motivo, a utilização de outros aditivos, como probióticos, prebióticos, simbióticos, enzimas exógenas, ácidos orgânicos, entre outros nas formulações de rações, têm auxiliado o animal no melhor aproveitamento dos nutrientes das rações (PIRES, 2016; SCHWARZ, 2002), propiciando o equilíbrio da flora intestinal das aves. Isto faz com que haja melhor absorção e utilização dos nutrientes provenientes da dieta. Possuem também ação de estimular o sistema imune, refletindo diretamente no desempenho e na qualidade de seus produtos finais (LEMOS et al., 2017).

Em experimentos avaliando o desempenho de codornas japonesas suplementadas com prebióticos a base de mananoligossacarídeos (MOS), Iqbal *et al.* (2015) observaram melhorias quanto ao peso, número e massa de ovos. De maneira semelhante, Zarei *et al.* (2011) também encontraram melhorias na qualidade de casca de ovos de galinha, tanto no peso quanto na espessura ao suplementá-las com probióticos, prebióticos e simbióticos.

2.1.1. ANTIBIÓTICOS

A introdução dos antibióticos na alimentação animal deu-se no final da década de 40, em estudos aplicados à identificação e isolamento da vitamina B12 em culturas fúngicas. Após este período, em 1951 o Food and Drug Administration (FDA) nos EUA, aprovou a primeira regulamentação do uso destas substâncias em baixas dosagens como promotores de crescimento (GONZALES et al., 2012).

Desde então, os agentes antimicrobianos são empregados na alimentação animal de maneira ampla com a finalidade de controlar agentes infecciosos oportunistas que venham acometer o trato digestório, melhorando a saúde, desempenho produtivo dos animais, reduzindo a competição por nutrientes e diminuindo a mortalidade (VASSALO et al., 1997).

Em virtude da vasta pressão de órgãos reguladores internacionais e da constatação de que alguns produtos com ação antimicrobiana poderia ter algum uso indiscriminado e causar posteriores resistências bacterianas ou reações de hipersensibilidade em humanos, a informação foi disseminada pelos meios de comunicação preocupando a população consumidora e os produtores. Diante disso, viu-se a necessidade da criação de regulamentações e normativas no objetivo de obter maior controle sobre o uso destas substâncias (GONZALES et al., 2012; NÉVOA et al., 2013).

De acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), os produtos que se enquadram como promotores de crescimento devem possuir: ação de amplo espectro sobre bactérias gram-positivas, atuando em pequenas dosagens, não devem apresentar resistência cruzada com outros microingredientes da ração, além de não apresentarem algum tipo de posição ou resíduo nos produtos finais (carne, ovos e leite), bem como, não haver efeito mutagênico e deletério ao ambiente (BRASIL, 2004; GONZALES et al., 2012).

Ainda assim, a União Europeia, o maior mercado comprador de produtos de origem animal provenientes do Brasil, proíbe a compra de qualquer tipo de produto que tenha sido utilizado antimicrobianos com finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho nas explorações animais (UE, 1996). Logo, às indústrias avícolas e suínicas sofrem pressões a se adaptarem a nova realidade, melhorando a genética, biossegurança, instalações e mudanças nas composições das dietas (DORR, 2003; NÉVOA et al., 2013).

Portanto, no Brasil, o MAPA por meio da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) restringiu o uso das seguintes classes e/ou substâncias de antimicrobianos com a finalidade de aditivo melhorador de desempenho: anfenicóis, avoparcina, tetraciclina, penicilinas, cefalosporinas, quinolonas, sulfonamidas, eritromicina, espiramicina, colistina, virginiamicina, bacitracina, tilosina, lincomicina, e tiamulina (MAPA, 2018; IN 45, 2016; IN 1, 2020).

2.1.2. PROBIÓTICOS

Na medicina humana, os probióticos possuem ampla utilização e benefícios comprovados como, prevenção e tratamento de doenças relacionadas a microbiota intestinal, e ação imunomoduladora contra distúrbios do metabolismo gastrointestinal

(CAPPOLA; GIL-TURNES, 2004; FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011). Na produção animal, são utilizados na forma de aditivos, e têm despertado grande interesse na indústria avícola nos últimos tempos, como potencial alternativa na substituição aos antibióticos (LEMOS et al., 2016).

O primeiro sucesso da inserção e do consumo de microrganismos benéficos associados à saúde humana, deu-se em 1907 por Metchnikoff, ao observar o estilo de vida de camponeses búlgaros, onde estes apresentaram maior longevidade ao ingerir leite fermentado contendo *Lactobacillus acidophilus*. O mesmo pesquisador constatou que a ingestão contínua destes microrganismos, promoveram a colonização de todo ambiente intestinal destes camponeses, prevenindo-os da ação de patógenos intestinais, que poderiam trazê-los a óbito (MACARI; FURLAN, 2005; SILVA, 2000).

Os probióticos são microrganismos vivos, que quando adicionados na ração, têm por finalidade colonizar o trato digestório, e suprimir o crescimento de bactérias patogênicas que podem competir pelo uso de nutrientes, sem induzir a resistência bacteriana (JUNQUEIRA; DUARTE, 2005).

O mecanismo de ação destes microrganismos está relacionado com a capacidade de produzir e liberar compostos com ação antibacteriana, como bacteriocinas, ácidos orgânicos, dentre eles o propiônico, acético, butírico e láctico, e peróxido de hidrogênio, reduzindo o pH do meio, inibindo o crescimento de patógenos oportunistas (BERTECHINI, 2012). Além disso, os probióticos podem auxiliar no sistema imunológico, aumentando a produção de anticorpos, proliferando a ação de células dos linfócitos T e B, ativação de macrófagos e desenvolvimento de imunoglobulinas (FULLER; GIBSON, 1997).

Para ser considerado probiótico, segundo Fuller (1989), os microrganismos devem: Resistir de maneira viável e estável diferentes condições de estocagem, serem capazes de sobreviver no ecossistema intestinal, sem que haja efeito contrário ao seu objetivo, ou seja, o hospedeiro deve ser beneficiado com sua presença.

Os microrganismos mais conhecidos e considerados probióticos são do gênero *Lactobacillus* (espécies: *bulgaricus*, *casei*, *lactis*, *acidophilus*, *plantarium*, *salivarius*, *reuteri*, *johnsii*), *Bifidobacterium* (espécies: *bifidum*, *breve*, *infantis*, *lactis*, *longum* e *thermophilum*), *Enterococcus* (espécies: *faecalis*, *faecium*), *Bacillus* (espécies: *subtilis*, *toyoï*), e *Streptococcus thermophilus* (COLLINS et al., 1998; MORAIS; JACOB, 2006).

As vias de administração dos probióticos na nutrição animal mais comuns são através da ração e da água de bebida, mas ainda existem outros métodos como, a pulverização sobre as aves, inoculação direta via intra-esofagiana, e inoculação via cloaca e, *in ovo* (OTUTUMI et al., 2010). Apesar das inoculações diretas às aves possuírem maior eficiência, as administrações via ração, água e pulverização se tornam mais aplicáveis nos plantéis avícolas atualmente, dado que têm-se número elevado de animais, e qualquer prática que visa otimizar o manejo das aves é sempre desejável (SILVA; ANDREATTI FILHO, 2000).

No objetivo de melhorar a eficiência, a utilização de probióticos nas primeiras semanas de vida das aves, favorece a ativação da resposta imune inespecífica e promove melhorias na resposta vacinal (HUNKA, 2017). Neste período há pouca diversidade da microflora intestinal, possibilitando a colonização por patógenos, refletindo diretamente na digestão e absorção de nutrientes provenientes da dieta (MILES et al., 2019).

É comprovada que a utilização de probióticos para colonização e manutenção da integridade intestinal em aves de produção, reduzem a ação de microrganismos associados à *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* (TODORIKI et al., 2001).

Em experimentos com frangos de corte em condições de desafio sanitário, LORA (2006) afirma que o probiótico composto por *Bacillus subtilis* utilizados nas rações, pode substituir ao antibiótico Avilamicina. Por outro lado, OTUTUMI et al. (2010) não observaram influência do uso de probióticos sobre a contagem de *Lactobacillus sp.*, de enterobactérias e de *Escherichia coli* em codornas de corte (*Coturnix coturnix sp.*), no período de 7 a 14 dias de vida.

Em termos de desempenho, Bueno (2009) verificou influência positiva sobre o peso médio de codornas japonesas aos 14 dias de idade. Já Lemos et al. (2017) constataram que a adição dos aditivos probióticos, prebióticos, e simbióticos em rações de codornas japonesas em postura, melhoraram a qualidade dos ovos.

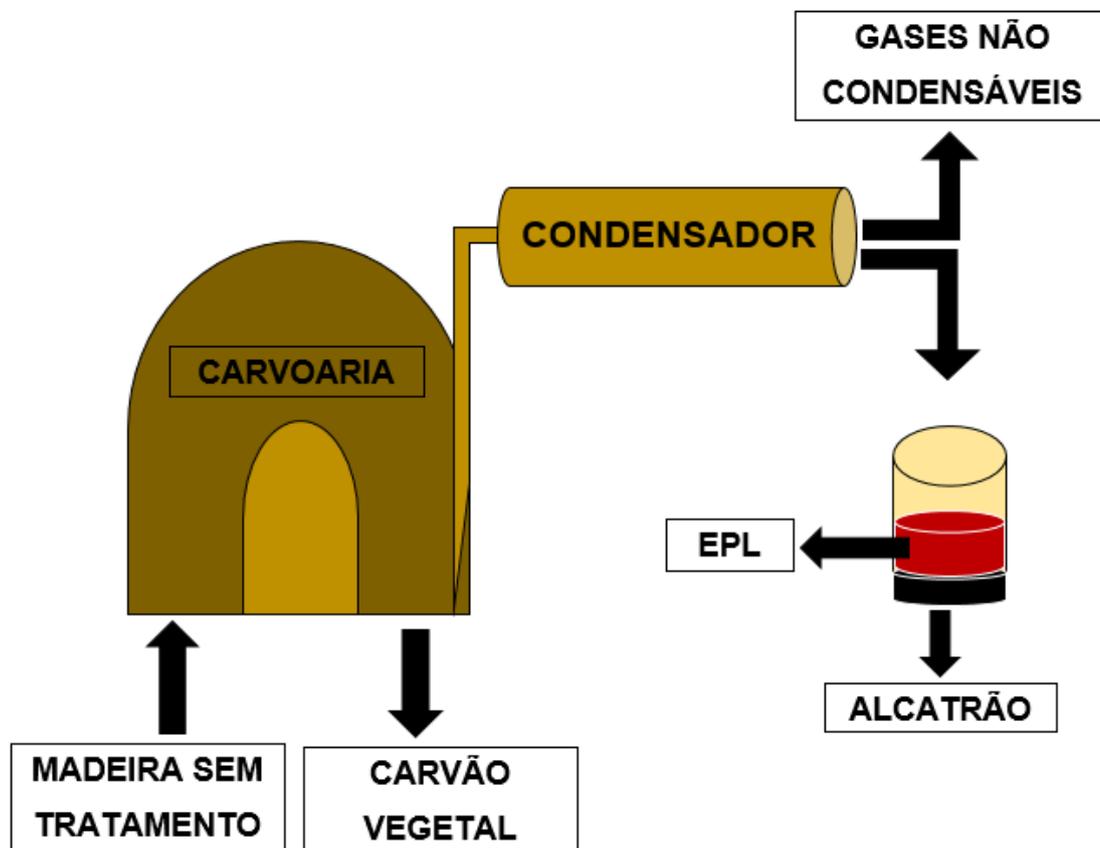
2.1.3. EXTRATO PIROLENHOSO

A utilização de extratos de origem vegetal na alimentação animal nos últimos tempos tem despertado interesse no meio científico, com aplicabilidade e objetivos

semelhantes a outros aditivos como os probióticos, prebióticos e simbióticos (DIÓGENES, 2017).

O ácido pirolenhoso ou extrato pirolenhoso (EPL), é popularmente conhecido como bioóleo, vinagre de madeira ou fumaça líquida. É obtido por meio do processo de carbonização da madeira não tratada ou de outros compostos de resíduos agrícolas. Neste processo, encontra-se como resultados três estados físicos: sólida – produto resultante é o carvão vegetal; gasosa – gases não condensáveis e líquida - fração pirolenhosa (CAMPOS, 2007), sendo que, as proporções obtidas em cada etapa pode variar de acordo com a tecnificação/equipamento utilizado para obtenção do produto, temperatura e tipo de madeira utilizada na queima (Figura 1). Em termos numéricos, em 100% da madeira queimada, obtém-se 49,90% de carvão vegetal, 17,10% gases condensáveis e 33% perdas e gases não condensáveis (VIEIRA et al.,2014).

Figura 1 - Esquema do processo de carbonização de madeiras e obtenção do EPL



FONTE - Brito, 1990. Adaptado pelo autor.

Após a extração, o líquido apresenta tonalidades de cores que vão do marrom, marrom-amarelo claro, castanho e castanho-avermelhado. Além da cor, o odor é bem característico, sendo o odor de defumado bem proeminente. O EPL deve ser mantido em repouso por período superior a 100 dias até que todas as reações de polimerização cessem e seus componentes estejam estabilizados. Este processo é fundamental, pois determina a decantação e posterior eliminação de impurezas e do alcatrão do EPL. Na decantação, o líquido apresenta três camadas distintas (CAMPOS, 2007; MIYASAKA, 2001; MATHEW; ZAKARIA, 2015) e com diferentes compostos orgânicos (Tabela 1) (BENITES et al., 2010):

- 1ª – 10%: Predominância de água (80-90%) e óleos vegetais;
- 2ª – 60 a 75%: Fração ou líquido pirolenhoso;
- 3ª – 20 a 30%: Alcatrão (fração tóxica).

Tabela 1 - Compostos orgânicos encontrados no EPL e suas respectivas concentrações

COMPOSTOS ORGÂNICOS	CONCENTRAÇÕES (%)
Ácido fórmico	8
Ácido acético	50
Acetona	~4
Ácido propiônico	~4
Cicloteno	0,7
Fenol	1
Guaiacol	1,70
Siringol	~2

Fonte: Adaptado de BENITES *et al.* (2010)

É importante salientar, que o tipo de madeira influencia na qualidade do EPL, sendo o indicado para fabricação e as mais utilizadas nas carvoarias brasileiras, o eucalipto, pinus e bambu. Madeiras de mata nativa não são indicadas, uma vez que há espécies consideradas tóxicas, tornando o EPL venenoso e impróprio para uso. Além do tipo de madeira, a temperatura empregada no processo de fabricação também deve ser controlada; temperaturas elevadas podem induzir a produção de compostos bioativos presentes no produto, como os benzopirenos, compostos cancerígenos, encontrado principalmente no alcatrão, interferindo na qualidade do mesmo (MIYASAKA, 1999; MU et al., 2004).

Os maiores produtores e consumidores deste tipo de produto são o Japão, China, Indonésia, Malásia, Brasil, Chile, e outros países da América do Sul (CAMPOS,

2007). A fabricação e utilização do EPL na agricultura é milenar, sendo no Japão empregado no controle de pragas via solo em diversas culturas agrícolas (MIYASAKA, 2001). No Brasil, somente em 2009 a Secretaria de Defesa Agropecuária e Abastecimento aprovou uma nova IN de nº 25, onde inclui o EPL como aditivo autorizado para uso em fertilizantes orgânicos e organominerais.

Na nutrição animal, o EPL pode ser utilizado como potencial substituto aos antibióticos, modificando de maneira benéfica a microflora intestinal refletindo no desempenho e eficiência animal. Outra potencial utilização, é o uso sobre a excretas, na solução de 1/50, com a finalidade reduzir mau cheiro e potenciais vetores (MIYASAKA et al., 1999).

Nunes (2019) ao avaliar o uso de EPL na alimentação de codornas japonesas em postura, constatou que a nível de 0,833% o EPL teve efeito positivo sobre os parâmetros de desempenho e qualidade de ovos. De maneira semelhante, Diógenes (2017) também obteve resultados positivos ao utilizar o EPL sobre a eficiência produtiva e viabilidade econômica de codornas europeias alojadas em dois tipos de cama (nova e usada), recomendando o uso de 2,5% do EPL na alimentação independente do tipo de cama. Para parâmetros de desempenho em frangos de corte, Menezes (2017) sugere a utilização de 1,2% do EPL.

Em experimentos com frangos de corte submetidos à infecção causada por *Salmonella enteritidis*, Watarai e Tana (2005) constataram que o EPL pode inibir o crescimento *S. enteritidis*, e estimular o crescimento e ação de outros microrganismos benéficos presentes no intestino das aves, como *Enterococcus faecium* e *Bifidobacterium thermophilum*. Além disso, as aves que foram imunizadas com vacinas contra a *S. enteritidis* e receberam a suplementação com EPL, apresentaram menor excreção fecal do patógeno, diminuindo assim a disseminação destes microrganismos indesejáveis no ambiente em que as aves estavam.

Testando outras funcionalidades do EPL, dentre elas o efeito antisséptico, Zhu (2013) em experimento com frangos de corte, frente à desintoxicação da aflatoxina B1, encontrou diferença estatística sobre àqueles que consumiram rações com aflatoxina, comprovando que níveis de inclusão do extrato melhoraram o ganho de peso e conversão alimentar.

3. ATIVIDADE DE ÁGUA E SUAS APLICAÇÕES

Nos alimentos, a água pode apresentar-se de duas formas: livre ou ligada aos substratos que compõe o alimento. A atividade de água (A_w) é uma medida que permite a avaliação da quantidade de água livre, ou seja, a água que não se encontra “presa ao alimento” que está suscetível às reações químicas, físicas e biológicas, com valores que podem variar de 0 a 1. Esta medida difere-se do teor de umidade, que considera toda a água presente no alimento, seja ela livre ou ligada (SCOTT, 1957; WELTI; VERGARA, 1997).

A água livre encontrada nos alimentos, pode ser removida por meio de processos de secagem, congelamento ou indisponibilizada por adição de soluções eletrolíticas ou sacarose. O crescimento de microrganismos só é possível se houver água livre, portanto, analisando a atividade de água é possível prever o crescimento e desenvolvimento de microrganismos, reações enzimáticas e não enzimáticas (NETO et al., 1976; VAN DER BERG; BRUIN, 1981).

Na indústria de alimentos, quantificar a A_w é atividade rotineira. A imposição de regulamentações e classificações de alimentos de acordo com a atividade de água é de conhecimento universal (DITCHFIELD, 2000).

Na nutrição animal a análise de atividade de água (A_w) também se torna importante. Ela fornece alguns valores que permitem maior controle da qualidade da matéria-prima a ser empregada na produção de rações, e também em produtos de origem animal frente ao crescimento de microrganismos (GARCIA, 2004). Na avicultura, o controle de patógenos como bactérias dos grupos das *Salmonella sp.*, *Clostridium sp.*, *Compylobacter sp.* e *Escherichia coli*, e de grupos de fungos como *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus*, *Fusarium verticillioides*, e entre outros microrganismos, podem ser detectados considerando a atividade de água (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2007; FARKAS, 1997; HAYES et al., 2000).

Beauchat (1981) afirma que as toxinas produzidas pelos microrganismos podem ser influenciadas pela A_w (Tabela 2). Enquanto que Zanatta et al. (2011) não observaram correlação entre a umidade e atividade de água de alimentos ao avaliarem o grau de perecibilidade.

Tabela 2 - Crescimento e produção de toxinas por microrganismos em função da atividade de água (A_w)

Microrganismos	A_w	
	Crescimento	Produção
<i>Aspergillus flavus</i>	0,78 – 0,80	Aflatoxinas (0,83-0,87)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,77 – 0,83	Ocratoxina A (0,83-0,87)
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,82	0,87
<i>Clostridium botulinum</i> (Tipo A)	0,93 – 0,95	0,94 – 0,95
<i>Clostridium botulinum</i> (Tipo E)	0,95 – 0,97	0,97
<i>Clostridium perfringens</i>	0,93 – 0,95	-
<i>Salmonella sp.</i>	0,92 – 0,95	-

Fonte: Adaptado por Beauchat, 1981.

A A_w de probióticos como os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* podem ser encontradas na literatura, pois são aditivos comumente usuais em produtos lácteos e derivados cárneos. Estas cepas de microrganismos benéficos precisam sobreviver aos processos de elaboração, manipulação e estocagem, sem que o produto perca a qualidade e traga algum malefício ao consumo (CICHOSKI et al., 2008). Buriti (2005) afirma que a sobrevivência e multiplicação de bactérias com ação probiótica em derivados lácteos, como em queijos frescos, é devido ao menor teor de sal e maior teor de umidade e atividade de água no substrato. Já em produtos cárneos, como os embutidos fermentados, o crescimento destes probióticos pode ficar comprometida, devido ao alto teor de sais de cura, baixo pH e consequente baixa atividade de água (MACEDO et al., 2008).

Na nutrição animal, precisa-se de maiores estudos para determinar a A_w em aditivos não nutrientes, como no caso dos antibióticos, probióticos, prebióticos e simbióticos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal do Espírito Santo – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, no setor de avicultura, localizado na área experimental de Rive, município de Alegre no Estado do Espírito Santo, (Latitude 20° 45' S – Longitude 41° 28' W).

Foram utilizadas 486 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) fêmeas, com 80 semanas de idade e peso médio inicial de 165g, durante período experimental de 84 dias, divididos em quatro períodos de 21 dias. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com seis tratamentos, nove repetições e nove aves por unidade experimental.

As aves foram alojadas em galpão de alvenaria, dispostos no sentido leste oeste, com pé direito de três metros e cobertura de telhas de barro. Foram utilizadas 54 gaiolas de arame galvanizado em arranjo tipo bateria com cinco andares, com medidas externas de 1,00m de comprimento x 0,33m de largura x 0,18m de altura com três subdivisões internas, de modo a formar três unidades experimentais de aproximadamente 0,11m². Cada gaiola possuía comedouro frontal, bebedouro tipo nipple individuais e bandejas de chapas metálicas, posicionadas na parte inferior de cada andar para o recolhimento das excretas.

As aves foram distribuídas nas unidades experimentais (UE) considerando a taxa de postura como critério de seleção. Para esta distribuição, no período pré-experimental, as aves foram submetidas ao controle de postura, por 30 dias. Após este período, as aves foram redistribuídas conforme a taxa de postura de modo a formar as unidades experimentais.

O programa de luz utilizado durante todo o período foi de 24 horas de luz (natural + artificial). As mensurações de temperatura do ar e umidade relativa do ar no interior das instalações foram registradas por meio de *data logger*, com registros simultâneos a cada 60 minutos, totalizando 24 leituras diárias.

Foi formulada dieta à base de milho e farelo de soja (Tabela 3), com níveis nutricionais segundo recomendações de Rostagno *et al.* (2011).

Tabela 3 - Composição nutricional – Dieta basal para codornas em postura

Composição alimentar (g/Kg)	
Milho (7,88%)	51,4682
Farelo de Soja (45%)	35,1267
Calcário	7,2009
Óleo de soja	2,8126
Fosfato Bicálcico	1,1616
DL- Metionina	0,3480
Sal comum (NaCl)	0,3468
L-Lisina HCL	0,1054
Pré-mistura Vitaminica ¹	0,1000
Cloreto de Colina	0,0600
Pré-mistura Mineral ²	0,0200
Antioxidante ³	0,2000
Inerte	1,0498
Total	100,00
Composição Química Calculada	
Energia Metabolizável (Kcal/kg)	2800,00
Proteína Bruta (%)	19,9400
Fibra bruta (%)	2,7521
Cálcio (%)	3,0990
Fósforo disponível (%)	0,3230
Sódio (%)	0,1550
Lisina digestível (%)	1,0830
Metionina + cistina digestível (%)	0,8880
Treonina digestível (%)	0,6905
Triptofano digestível (%)	0,2295
Arginina digestível (%)	1,2885
Fenil + tirosina digestível (%)	1,6087
Fenil digestível (%)	0,9408
Valina digestível (%)	0,8618
Isoleucina digestível (%)	0,7980
Leucina (%)	1,5838
Glicina + serina total (%)	1,9218
Histidina digestível (%)	0,5015
Ácido linoleico (%)	2,7752

¹ Suplemento Vitaminico (por Kg do produto) – Vitamina A: 8.000.000 UI; Vitamina D3: 2.000.000 UI; Vitamina K3: 1.800mg; Vitamina B1: 1.500mg; Vitamina B2: 5.000mg; Vitamina B6: 2.800mg; Vitamina B12: 12.000mcg; Vitamina E: 15.000 UI; Niacina: 35g; Ácido pantotênico: 12g; Ácido fólico: 750 mg

² Suplemento Mineral (por Kg do produto) – Cobre: 20g; Ferro: 96g; Iodo: 1.400mg; Manganês: 156g; Selênio: 360mg; Zinco: 110g

³ Antioxidante – Butil-hidroxi-tolueno (BHT)

Os tratamentos foram constituídos por: T1 – Ração basal (sem uso de aditivos), T2 – RB + antibiótico (Enramax[®] – 8%); T3 – RB + Extrato pirolenhoso (EPL), T4 – RB + probiótico (Protexin[®]), T5 – RB + probiótico (PAS-TR[®]), T6 – RB + probiótico (DBA[®]). Para a inclusão do antibiótico, extrato pirolenhoso e probióticos, procedeu-se a técnica de substituição do inerte pelo produto a ser utilizado (Tabela 4). As dietas referentes

a cada unidade experimental foram acondicionadas em recipientes plásticos, com tampas e devidamente identificados.

Tabela 4 – Composição e níveis de garantia/kg do produto

Tratamentos	Concentrações/Princípio ativo dos microrganismos
1 – Ração Basal – RB	--
2 – RB + Antibiótico ²	Enramax [®] – 80 g/kg
3 – RB + EPL ³	Ácido fórmico – 8 % Ácido acético – 50% Acetona – ~4 % Ácido propiônico – ~4% Cicloteno – 0,7% Fenol – 1% Guaiacol – 1,70% Siringol – ~2%
4 – RB + Protexin ⁴	<i>Lactobacillus acidophilus</i> – 2,06x10 ⁸ UFC/g <i>Lactobacillus bulgaricus</i> – 2,06x10 ⁸ UFC/g <i>Lactobacillus plantarum</i> – 1,26x10 ⁸ UFC/g <i>Lactobacillus rhamnosus</i> – 2,06x10 ⁸ UFC/g <i>Bifidobacterium bifidum</i> – 2,0x10 ⁸ UFC/g <i>Enterococcus faecium</i> – 6,46x10 ⁸ UFC/g <i>Streptococcus acidophilus</i> – 4,10x10 ⁸ UFC/g
5 – RB + PAS-TR ⁵	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoii</i> – 4,0x10 ¹² UFC <i>Bacillus Subtilis</i> – 4,0x10 ¹² UFC
6 – RB + DBA ⁶	<i>Lactobacillus acidophilus</i> – 3,5x10 ¹¹ UFC <i>Enterococcus faecium</i> – 3,5x10 ¹¹ UFC <i>Bifidobacterium bifidum</i> – 3,5x10 ¹¹ UFC

²Antibiótico – Enramax[®] - 8%; ³Extrato – EPL; ^{4,5 e 6} Probióticos - Protexin[®]; PAS-TR[®]; DBA[®]

Durante todo experimento as aves receberam água e ração à vontade, sendo a ração fornecida duas vezes ao dia (início da manhã e fim da tarde). Ao final de cada período experimental, o consumo de ração foi calculado, pesando as sobras de rações, e por diferença entre a ração fornecida e a respectiva sobra, obteve-se o total do consumo. Em casos de mortalidade de aves, as rações dos comedouros (sobras) foram pesadas de forma a ajustar o controle de consumo, conversão alimentar e taxa de postura (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2007).

Os ovos foram coletados diariamente, sempre às 08:00 horas, onde considerou-se o número de ovos comerciais, excluindo os ovos não comerciais (bicados, trincados, de casca mole e fina, abortados e/ou mal formados).

No laboratório de Bromatologia do DZOO/UFES - CCAE, foi feita a avaliação e posteriores cálculos para os parâmetros desempenho e qualidade de ovos. O

desempenho foi medido pelas variáveis: Consumo de ração (g/ave/dia), que foi obtida pela diferença entre o peso da ração fornecida e o peso das sobras dos comedouros nos respectivos recipientes (baldes) ao final de cada período experimental. Na ocorrência de mortalidades, a correção foi feita pela data da mortalidade, para assim obter o número de aves corrigido em cada UE. Ao final de cada período de 21 dias, foram calculadas as porcentagens de ovos/ave/dia, tendo assim a produção de ovos comerciais e taxa de postura.

Ao final do segundo e quarto período experimental, foram coletados nos últimos quatro dias, cinco ovos/dia em cada unidade experimental, obtendo 20 ovos/UE, totalizando 1.080 ovos/período. Todos eles foram pesados em balança de precisão 0,001g, para mensuração do peso médio dos ovos (g), massas de ovos (g de ovo/ave/dia), conversão alimentar (g/g e kg/dúzia) e parâmetros de qualidade dos ovos.

A conversão alimentar foi obtida por meio da relação entre o consumo de ração dividido pela produção média de ovos em gramas (g/g), e pela produção média em dúzia de ovos (kg/dúzia).

É importante ressaltar que, os valores obtidos para cada variável de desempenho foi considerando apenas os ovos comerciais/viáveis.

Para o parâmetro qualidade dos ovos as variáveis utilizadas foram: Peso absoluto (g) e relativo (%) de albúmen, gema e casca, índice de albúmen (IA) e índice de gema (IG). Dos cinco ovos/UE, três foram selecionados aleatoriamente para as análises de peso absoluto e relativo. Eles foram quebrados com auxílio de tesoura de ponta fina, em sentido horizontal e feita a separação entre o albúmen, gema e casca. Para mensuração do peso das cascas, as mesmas foram lavadas em água corrente, e secas em estufa de circulação de ar forçada a 65°C por 24 horas. O peso do albúmen foi obtido pela diferença entre o peso médio dos ovos, peso da gema e peso das cascas depois de secas.

Para calcular o índice de albúmen e o índice de gema, os outros dois ovos/UE, foram quebrados e dispostos em placa de Petri em superfície plana, e feita a medição através de paquímetro digital da marca Calliper em suporte de tripé, medindo a altura e o diâmetro do albúmen espesso e da gema.

Além das análises de desempenho e qualidade dos ovos, foram feitas a determinação da matéria seca das excretas (MS) e atividade de água (A_w) das rações experimentais.

Para determinação da matéria seca das excretas, as mesmas foram coletadas de cada tratamento em cinco repetições, na metade do segundo e quarto período experimental. Estas foram coletadas duas vezes ao dia (8:00horas e 16:00horas) por cinco dias consecutivos, utilizando o método de coleta total, condicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer até semana subsequente à coleta para avaliação.

No laboratório de Bromatologia do DZOO/UFES – CCAE, as excretas foram descongeladas, pesadas e homogeneizadas para retirada de alíquota que foram colocadas em estufa de circulação de ar forçada a 55°C onde foi feita a pré-secagem, e posteriormente foram moídas e postas em estufa à 105°C para determinação da matéria seca definitiva, utilizando a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

A atividade de água (A_w) foi realizada na metade do segundo e quarto período experimental, no laboratório de Operações Unitárias do departamento de Engenharia de Alimentos – UFES/CCAЕ, onde foram analisadas a A_w de todas as rações experimentais e de todas as repetições, utilizando o aparelho medidor de atividade de água da marca HygroLab Rotronic C1, por medida direta nas amostras, mantidas a temperatura ambiente de 25°C-26°C.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e com o teste F significativo a nível 5% de probabilidade ($P < 0,05$), prosseguiu-se para o teste de comparação de médias Student-Newman-Keuls (SNK), utilizando o software R (Linguagem e Programação).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de temperatura e umidade relativa do ar registrados durante todo período experimental foram $27,16^{\circ}\text{C} \pm 3,92$ e $65,9\% \pm 15,14$. De acordo com Oliveira *et al.* (2006) aves adultas possuem faixa de conforto térmico de 21°C e umidade relativa do ar de 57 a 69%. Para codornas japonesas em produção, Albino e Barreto (2003), Ferreira (2005) e Oliveira (2004), afirmam que a temperatura de conforto está entre 18° a 21°C e umidade relativa do ar de 65 a 70%. Desta forma, pode-se concluir que as aves permaneceram sob ligeiro estresse por calor durante todo período experimental.

Foi encontrado efeito significativo ($P < 0,05$) para a variável peso médio dos ovos (g) nos tratamentos que receberam rações com diferentes aditivos. A inclusão dos aditivos aumentou o peso médio dos ovos em comparação com o tratamento controle (Tabela 5).

Tabela 5 – Taxa de postura (TP) (%), peso médio dos ovos (PMO) (g), massa de ovos comerciais (MOC) (g/ave/dia) de codornas japonesas submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos

TRATAMENTOS	TP (%)	PMO (g)	MOC (g/ave/dia)
Ração basal (RB)	60,17	11,409 b	6,863
RB + Enramicina¹	60,90	11,996 a	7,309
RB + EPL	62,15	11,738 a	7,294
RB + Protexin²	61,03	12,050 a	7,349
RB + PAS-TR³	61,60	11,859 a	7,312
RB + DBA⁴	61,15	11,980 a	7,321
Efeito	n.s.	*	n.s.
Probabilidade	$P > 0,05$	$P < 0,05$	$P > 0,05$
CV (%)	8,02	2,14	8,23

¹Antibiótico – Enramicina (Enramax® 8%); EPL – Extrato pirolenhoso; ²Protexin® (*Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*; *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus rhamnosus*; *Bifidobacterium bifidum*; *Enterococcus faecium*; *Streptococcus thermophilus*); ³PAS-TR® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*; *Bacillus subtilis*); ⁴DBA® (*Lactobacillus acidophilus*; *Enterococcus faecium*; *Bifidobacterium bifidum*).

Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si estatisticamente pelo teste SNK a 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

n.s.: Não significativo a % 5 de probabilidade ($P > 0,05$) pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação.

O rápido desenvolvimento de bactérias benéficas no ambiente digestório, proporcionado pelos aditivos, faz com que a eficiência da digestão, absorção e utilização dos nutrientes provenientes da dieta, sejam intensificados. Este efeito dos aditivos sobre o peso dos ovos se torna interessante, dado que o peso do ovo é influenciado pela idade da ave, ou seja, poedeiras com idades avançadas tendem a apresentar ovos maiores e mais leves.

Resultados semelhantes foram encontrados por Zarei *et al.* (2011), onde observaram aumento do peso médio dos ovos de galinhas ao utilizar diferentes aditivos. Lemos (2015), constatou que a inclusão de antibiótico, probióticos, prebióticos e simbióticos melhoraram a taxa de postura, peso médio dos ovos e massa de ovos de codornas japonesas.

Já Shalaei *et al.* (2014) não encontraram efeito significativo sobre o peso médio dos ovos e massa de ovos de codornas. Pedroso *et al.* (2001), não encontraram efeito significativo sobre os parâmetros de desempenho e qualidade de ovos de poedeiras de 50 a 60 semanas de idade, suplementadas com probiótico *Bacillus subtilis*.

Análogo aos resultados encontrados, Nunes (2019) não encontrou diferença estatística na taxa de postura de codornas japonesas suplementadas com EPL. Da mesma forma, Yamauchi *et al.* (2014), não encontraram efeitos significativos utilizando EPL sobre a produção de ovos de poedeiras da linhagem White Leghorn.

Foi encontrada diferença estatística ($P < 0,05$) para a variável consumo de ração (Tabela 6). Normalmente, as variações que podem ser encontradas para o consumo de ração, estão relacionadas ao nível de energia das rações (SANTOS, 2014). As aves conseguem regular a ingestão de ração no objetivo de atender suas necessidades energéticas, e qualquer modificação na energia metabolizável, pode resultar em maior ou menor consumo de ração. Partindo do princípio de que as rações utilizadas foram isoenergéticas, isoproteicas e isoaminoacídicas, podemos inferir que a utilização do probiótico DBA pode ter diminuído a população de microrganismos patogênicos, favorecendo a utilização de energia pelo animal, dado que, houve alteração no consumo de ração.

As condições térmicas de alojamento das aves, podem influenciar diretamente nos parâmetros de desempenho, uma vez que, em condições de estresse térmico pelo calor, há redução no consumo de ração, queda na taxa de postura e maiores índices de ovos mal formados e abortados. Neste experimento, as aves permaneceram sob ligeiro excesso de calor, e mesmo assim a taxa de postura e a

massa de ovos não variaram significativamente entre os tratamentos. Os resultados obtidos para conversão alimentar (kg/dz e g/g), são reflexos direto dos resultados de produção de ovos e do consumo de ração (Tabela 6). Resultados estes que chamam a atenção, dado que, poedeiras em períodos finais de produção, e com idades mais avançadas, tendem a apresentar resultados de consumo de ração e conversam alimentar pioradas.

Tabela 6 – Consumo de ração (CR) (g/ave/dia), conversão alimentar (CA) (kg de ração/dúzia de ovos) e conversão alimentar (CA) (g de ração/g de ovo) de codornas japonesas submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos

TRATAMENTOS	CR (g/ave/dia)	CA (kg ração/dúzia de ovos)	CA (g de ração/g de ovo)
Ração basal (RB)	25,374 a	0,508	3,710
RB + Enramicina¹	25,439 a	0,506	3,516
RB + EPL	25,443 a	0,493	3,504
RB + Protexin²	25,091 a	0,497	3,436
RB + PAS-TR³	25,243 a	0,494	3,479
RB + DBA⁴	24,545 b	0,483	3,360
Efeito	*	n.s.	n.s.
Probabilidade	P<0,05	P>0,05	P>0,05
CV (%)	2,15	7,84	8,12

¹Antibiótico – Enramicina (Enramax® 8%); EPL – Extrato pirolenhoso; ²Protexin® (*Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*; *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus rhamnosus*; *Bifidobacterium bifidum*; *Enterococcus faecium*; *Streptococcus thermophilus*); ³PAS-TR® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*; *Bacillus subtilis*); ⁴DBA® (*Lactobacillus acidophilus*; *Enterococcus faecium*; *Bifidobacterium bifidum*).

Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si estatisticamente pelo teste SNK a 5% de probabilidade (P>0,05).

n.s.: Não significativo a % 5 de probabilidade (P>0,05) pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação.

Lemos (2015), ao estudar a inclusão de diferentes aditivos e ração sem aditivos, na dieta de codornas, observou que as aves submetidas ao tratamento sem a inclusão de aditivos apresentaram maior consumo de ração. Diógenes (2017) verificou maior consumo de ração ao utilizar o EPL na ração de codornas europeias.

Nunes (2019) ao estudar diferentes níveis de EPL em dietas para codornas japonesas em postura, encontrou maiores médias para consumo de ração no tratamento contendo 1,2% de EPL. Menezes (2017), com frangos de corte, não encontrou diferença estatística para o consumo ao utilizar EPL, mas observou de maneira geral melhora no desempenho das aves.

Nikpiran *et al.* (2013) observaram melhora na conversão alimentar (kg/dz) ao utilizar probióticos e prebióticos na ração de codornas japonesas. Por outro lado,

Nunes *et al.* (2013) não encontraram efeito sobre o consumo de ração, produção/ave/dia e conversão alimentar ao utilizar probióticos na alimentação de poedeiras semipesadas no segundo ciclo e postura. Em poedeiras comerciais leves no segundo ciclo de postura, Giampauli *et al.* (2005) não encontraram significância ao utilizar probióticos na ração destas aves sobre os parâmetros de consumo de ração e conversão alimentar.

O peso absoluto de ovo (g), peso absoluto (g) e relativo (%) de gema, peso absoluto (g) e relativo (%) de albúmen, e peso absoluto (g) e relativo (%) de casca, não foram influenciados ($P>0,05$) pela incorporação dos diferentes aditivos às rações (Tabela 7).

Tabela 7 – Peso médio de ovo (PMO) (g), peso absoluto (g) e relativo (%) de gema (PG), peso absoluto (g) e relativo de albúmen (PA) e peso absoluto (g) e relativo (%) de casca (PC) de codornas japonesas submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos

TRATAMENTOS	PMO		PG		PA		PC	
	g	g	%	g	%	g	%	
Ração basal (RB)	11,969	3,782	31,59	7,253	60,61	0,933	7,799	
RB + Enramicina¹	12,293	3,909	31,80	7,420	60,35	0,964	7,848	
RB + EPL	12,059	3,871	32,12	7,223	59,87	0,965	8,008	
RB + Protexin²	12,094	3,797	31,41	7,349	60,76	0,947	7,835	
RB + PAS-TR³	11,985	3,875	32,36	7,162	59,72	0,948	7,920	
RB + DBA⁴	11,937	3,905	32,72	7,091	59,39	0,942	7,888	
Efeito	---	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Probabilidade	---	$P>0,05$	$P>0,05$	$P>0,05$	$P>0,05$	$P>0,05$	$P>0,05$	
CV (%)	---	3,18	3,09	3,98	1,72	2,91	2,75	

¹Antibiótico – Enramicina (Enramax® 8%); EPL – Extrato pirolenhoso; ²Protexin® (*Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*; *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus rhamnosus*; *Bifidobacterium bifidum*; *Enterococcus faecium*; *Streptococcus thermophilus*); ³PAS-TR® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*; *Bacillus subtilis*); ⁴DBA® (*Lactobacillus acidophilus*; *Enterococcus faecium*; *Bifidobacterium bifidum*).

Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si estatisticamente pelo teste SNK a 5% de probabilidade ($P>0,05$).

n.s.: Não significativo a % 5 de probabilidade ($P>0,05$) pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação.

Alterações da qualidade do ovo, é processo normal e estas mudanças ocorrem por motivos diversos, que influenciam nas proporções de cada uma das partes dos ovos (gema, albúmen e casca). Sabe-se que o albúmen, além das funções nutricionais no desenvolvimento embrionário de ovos galados, exerce importante função de circundar e controlar o movimento da gema, mantendo-a na parte central do ovo quando íntegro. Mediante esta análise, é possível verificar a qualidade interna do ovo.

Onde, ovos novos apresentam gema bem localizada, com o albúmen denso límpido, transparente, e com consistência viscosa. Já ovos velhos, a gema não se encontra na parte central, e o albúmen perde a viscosidade, apresentando característica liquefeita (QUADROS et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2001).

Isto acontece, pois a medida que ovo envelhece, ocorrem diversas reações químicas que levam principalmente as estruturas de proteínas que constituem o albúmen denso, se tornarem mais frágeis e se romperem com facilidade (SANTOS, 2005). Segundo Carbó (1987), estas reações podem ocorrer logo nos primeiros dias pós-postura, e serem aceleradas pelo processo de armazenamento.

Além da idade da ave e do período de armazenamento alterarem os constituintes dos ovos, sabe-se que a disponibilidade de nutrientes também está associada à esta alteração. Benites *et al.* (2005), afirmam que o albúmen compõe 60% do peso total do ovo, e este é constituído principalmente por proteínas. Desta forma, qualquer deficiência de aminoácidos e proteínas, pode resultar em um decréscimo da quantidade de albúmen e, conseqüentemente peso e tamanho de ovo menores.

De maneira semelhante, pode ocorrer com os demais constituintes, havendo uma ligeira falta de algum nutriente na ração, a formação da gema e da casca podem ficar comprometidas. Nesse contexto, pode-se associar a ausência de efeito significativo dos tratamentos sobre os constituintes dos ovos (albúmen, gema e casca) ao atendimento das exigências nutricionais e ao curto período de armazenamento dos ovos.

Estes resultados coincidem com os encontrados por Lemos *et al.* (2014) e Kalsum *et al.* (2012), ao incluírem probióticos e prebióticos na ração de codornas, não obtiveram significância sobre os pesos relativos de albúmen, gema e casca, mas a inclusão destes melhorou significativamente a produção total dos ovos. De maneira contrária, Nunes (2019) ao utilizar EPL na ração de codornas japonesas em postura, obteve efeito significativo sobre os pesos relativos de albúmen, gema e casca.

O índice de gema e o índice de albúmen, são parâmetros de qualidade interna de ovos, que têm sido utilizadas de maneira universal, sendo de fácil aplicabilidade, pois é de fácil aferição (FREITAS et al., 2004; SILVA, 2004) e de precisão considerável.

Foi verificado efeito significativo ($P < 0,05$) entre os diferentes aditivos sobre índice de albúmen (IA). A inclusão do aditivo EPL na ração das codornas japonesas,

proporcionou maior índice de albúmen ($P < 0,05$) em comparação com os demais tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8 – Peso médio de ovo (PMO) (g), índice de albúmen (IA) (%) e índice de gema (IG) (%) de codornas japonesas submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos

TRATAMENTO	PMO (g)	IA (%)	IG (%)
Ração basal (RB)	11,969	55,39 b	79,94
RB + Enramicina¹	12,293	55,83 b	79,45
RB + EPL	12,059	58,72 a	81,80
RB + Protexin²	12,094	53,53 b	78,86
RB + PAS-TR³	11,985	55,27 b	77,45
RB + DBA⁴	11,937	56,33 a b	81,93
Efeito	---	*	n.s.
Probabilidade	---	$P < 0,05$	$P > 0,05$
CV (%)	---	4,53	4,90

¹Antibiótico – Enramicina (Enramax® 8%); EPL – Extrato pirolenhoso; ²Protexin® (*Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*; *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus rhamnosus*; *Bifidobacterium bifidum*; *Enterococcus faecium*; *Streptococcus thermophilus*); ³PAS-TR® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*; *Bacillus subtilis*); ⁴DBA® (*Lactobacillus acidophilus*; *Enterococcus faecium*; *Bifidobacterium bifidum*).

Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si estatisticamente pelo teste SNK a 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

n.s.: Não significativo a % 5 de probabilidade ($P > 0,05$) pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação.

Estudos têm sugerido que a inclusão de aditivos com ação probiótica, e extratos vegetais melhoram parâmetros de qualidade interna dos ovos (NUNES et al., 2013; OZEK et al., 2011). Desta forma, o efeito significativo encontrado sobre o índice de albúmen, indica que houve efeito benéfico ao incluir o EPL, que é um extrato vegetal, na ração de codornas.

Este resultado se torna interessante, visto que aves com maior idade e em período final de produção possuem uma menor deposição proteica, e maior deposição de gordura, apresentando características de qualidade interna e externas dos ovos pioradas.

Zhu (2013) não observou diferenças sobre o desempenho ao utilizar vinagre pirolenhoso de bambu nos níveis de 0,1; 1 e 2% em rações de frangos de corte. Da mesma forma, Karaalp et al. (2018) não obtiveram resultados significativos sobre as características físicas externas e internas de ovos de galinhas suplementadas com vinagre de maçã.

Em nutrição animal, a análise de matéria seca é rotineira, pois tanto rações quanto excretas, possuem duas porções: matéria úmida e matéria seca, sendo que a parte úmida normalmente atua no equilíbrio hídrico do corpo e auxilia no processo de digestão. Assim, os constituintes nutricionais, exceto a água, da ração normalmente são expressos em termos de matéria seca. Para este parâmetro, não foi encontrada diferença estatística ($P>0,05$) (Tabela 9).

Tabela 9 – Teor de matéria seca (MS) (%) e matéria úmida (MU) (%) das excretas de codornas japonesas, e atividade de água (A_w) submetidas a rações contendo EPL e diferentes probióticos

TRATAMENTOS	EXCRETAS		RAÇÃO
	MS (%)	MU (%)	A_w
Ração basal (RB)	22,195	77,81	0,7300 bc
RB + Enramicina ¹	23,280	76,72	0,7337 b
RB + EPL	22,223	77,78	0,7614 a
RB + Protexin ²	22,716	77,28	0,7253 c
RB + PAS-TR ³	22,783	77,22	0,7309 bc
RB + DBA ⁴	21,968	78,03	0,7275 bc
Efeito	n.s.	n.s.	*
Probabilidade	$P>0,05$	$P>0,05$	$P<0,05$
CV (%)	7,51	2,18	0,85

¹Antibiótico – Enramicina (Enramax® 8%); EPL – Extrato pirolenhoso; ²Protexin® (*Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*; *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus rhamnosus*; *Bifidobacterium bifidum*; *Enterococcus faecium*; *Streptococcus thermophilus*); ³PAS-TR® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*; *Bacillus subtilis*); ⁴DBA® (*Lactobacillus acidophilus*; *Enterococcus faecium*; *Bifidobacterium bifidum*).

Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si estatisticamente pelo teste SNK a 5% de probabilidade ($P>0,05$).

n.s.: Não significativo a % 5 de probabilidade ($P>0,05$) pelo teste SNK.

CV – coeficiente de variação.

O ambiente intestinal das aves é complexo. O epitélio intestinal serve como barreira, que em funcionamento normal, regula a absorção de nutrientes e água. Durante toda a extensão do intestino, pode-se encontrar os enterócitos, que são projeções epiteliais com formas de bordas em escova de microvilos, tendo como função principal barreira física, digestão final de alimentos e transporte de nutrientes a partir do lúmen. Neste local, também é possível encontrar as células caliciformes, que são células secretoras de muco, que lubrificam e protegem todo o epitélio intestinal contra infecções, e contato direto dos microrganismos com as células intestinais (MACARI et al., 2005).

Além de complexo, o intestino é sensível a qualquer mudança. Por este motivo, qualquer desequilíbrio neste meio, faz com que a produção de muco, seja acentuada. Alguns autores relatam que a utilização de aditivos com microrganismos vivos, podem

regular a produção de mucina pelos enterócitos, estes efeitos estão relacionados a expressão do gene MUC-2 (BROWN, 2011; MATTAR et al. 2002; TODORIKI et al., 2001). Dessa forma, a produção de muco pode ser acentuada em aves que não receberam este tipo de aditivos na dieta, e com uma possível presença de microrganismos patogênicos, desencadeando uma resposta imune acentuada.

Ainda assim, o modo de ação e eficácia dos probióticos sobre as aves, pode estar relacionada a dois fatores: quantidade de microrganismos vivos utilizados, e/ou ao fator estresse, seja nutricional, manejo ou ambiente de alojamento (JIN et al., 1998; LIMA et al., 2003). No presente trabalho, a ausência de influência significativa da inclusão dos aditivos sobre a matéria seca das excretas, pode estar relacionada a não exposição das aves ao desafio sanitário. Embora as mesmas tenham permanecido sob ligeiro estresse por calor, esta condição não influenciou nos valores encontrados de matéria úmida e seca.

Ribeiro Junior (2011) estudando o efeito de probióticos à base de *Bacillus subtilis* para poedeiras leves sobre o desempenho e matéria seca das excretas, verificou que as aves que receberam rações com *B. subtilis* apresentaram um teor de matéria seca em média 4,49% superior ao tratamento controle, refletindo também na produção e massa de ovos destas aves.

Em relação a atividade de água, pode-se encontrar de maneira ínfima na literatura, poucos resultados sobre a A_w dos ingredientes base das formulações de rações, como o milho, farelo de soja, trigo e sorgo. Estes grãos possuem A_w elevada, propiciando o crescimento e proliferação de microrganismos indesejáveis (SHIBATA, 2018).

A atividade de água foi influenciada pela incorporação dos aditivos à ração. Foi verificada interação significativa ($P < 0,05$) entre os aditivos analisados sobre a A_w (Tabela 9). A inclusão do EPL aumentou a A_w da ração. O que pode ser justificado pela própria característica do produto, dado que, o EPL quando incorporado à ração é na forma líquida, favorecendo o aumento da umidade da ração e dos valores de A_w .

Em relação a A_w dos probióticos, na literatura é possível encontrar dados sobre os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que são aditivos usuais em alimentos de consumo humano, como os produtos lácteos e derivados cárneos. Já com aplicabilidade na nutrição animal, não foi possível encontrar resultados.

Buriti (2005) e Macedo et al. (2008) afirmam que altos teores de sal ($> 5\%$ NaCl), baixo pH e baixa umidade, podem comprometer a sobrevivência e

multiplicação destes microrganismos com ação probiótica. Isso nos leva a constatar que, os ingredientes utilizados nas rações, juntamente com os baixos teores de sal utilizados nas formulações, favorecem a alta A_w , como encontrado neste experimento.

6. CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos pode-se concluir que, o antibiótico pode ser substituído pelos probióticos e EPL em termos de desempenho e características de qualidade de ovos de codornas japonesas.

7. REFERÊNCIAS

- ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S. L. T. **Criação de codornas para produção de ovos e carne**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 268p.
- ALVES, M. G. M. Aditivos melhoradores de desempenho na alimentação de poedeiras comerciais. **NutriTime - Revista Eletrônica**, vol. 13, n.4, 2017.
- BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; FONTANA JÚNIOR, A. J.; SCHMIDT, S. J.; LABUZA, T. P. **Water activity in foods** – Fundamentals and Applications. 1ª ed. New York: John Wiley & Sons, 2007.
- BARRETO, S. L. T.; ARAÚJO, M. S.; UMIGI, R. T.; DONZELE, J. L.; ROCHA, T. C. da.; PINHEIRO, S. R. F.; TEIXEIRA, R. B.; ABREU, F. V. S. de.; SILVA, R. F. Exigência nutricional de lisina para codornas europeias machos de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.750-753, 2006.
- BEAUCHAT, L. R. Microbial stability as affected by water activity. **Cereal Food World**, n. 26, p. 345-349, 1981.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 2012. 373 p.
- BENITES, C. I.; FURTADO, P. B. S.; SEIBEL, N. F. Características e aspectos nutricionais do ovo. In: SOUZ-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. **Aves e ovos**. Pelotas: UFPEL, p. 57-64, 2005.
- BENITES, V. D. M.; TEIXEIRA, W. G.; REZENDA, M.; PIMENTA, A. S. **Utilização de carvão e subprodutos da carbonização vegetal na agricultura: aprendendo com as terras pretas de índio**. Embrapa Amazônia Ocidental-Capítulo em livro científico (ALICE). 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de apoio rural e cooperativismo. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2004. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-13-de-30-de-novembro-de-2004.pdf/view>> Acesso em: 04 ago. de 2019.
- BRITO, J. O. Princípios da produção e utilização do carvão vegetal de madeira. **Documentos Florestais**, Piracicaba, v.9, p.1–19, 1990.
- BROWN, M. Modes of action of probiotics: recente developments. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 10, n. 14, p. 1895-1900, 2011.
- BUENO, R. **Efeito da utilização de probióticos sobre o desempenho e morfologia intestinal de codornas japonesas**. 2009. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal). Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009, 94 f.

BURITI, F. C. A. **Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico**. 2005. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Área de Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo (USP). São Paulo, 86 p., 2005.

CAMPOS, A. D. Técnicas para Produção de Extrato Pirolenhoso para Uso Agrícola. **Circular Técnica**, Pelotas, 2007.

CAPPOLA, M. M. de.; GIL-TURNES, C. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, v.34, n.4, 2004.

CARBÓ, C. B. **La gallina ponedora**. Madrid, Espanha: Ediciones Mundi – Prensa. p. 519. 1987.

CASTANON, J. I. R. History of the use of antibiotic as growth promoters in European Poultry Feeds. **Poultry Science**, v.86, p.2466-2471, 2007.

CICHOSKI, A. J.; CUNICO, C.; DI LUCCIO, M.; ZITKOSKI, J. L.; CARVALHO, R. T. de. Efeito da adição de probióticos sobre as características de queijo prato com reduzido teor de gordura fabricado com fibras e lactato de potássio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.28, n.1, p. 214-219, 2008.

COLLINS, J. K., THORNTON, G., SULLIVAN, G. O. Selection of probiotic strains for human applications. *Int. Dairy Journal Amsterdam*, v.8, p.487-490, 1998.

DITCHFIELD, C. **Estudos dos métodos para a medida da atividade de água**. 2000. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Universidade de São Paulo - Escola Politécnica, São Paulo, 195f., 2000.

DIÓGENES, G. V. **Extrato pirolenhoso como aditivo na ração de codornas europeias em dois tipos de cama**. 2017. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Universidade Federal do Rio Grande do Norte – Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, Macaíba, 33 f. 2017.

DORR, A. C. **O posicionamento da indústria avícola frente às restrições do mercado consumidor europeu**. Dissertação (Mestrado em Economia Aplicada). Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2003.

FARKAS, J. Physical methods of food preservation, in: Doyle, M. P.; BEAUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T. J. **Food Microbiology – Fundamentals and Frontiers**, ASM Press, USA, p.497-519, 1997.

FERREIRA, R. A. **Maior produção com melhor ambiente: para aves, suínos e bovinos**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2005, 371p.

FREITAS, E. R.; SAKOMURA, N. K.; GONZALES, M. M.; BARBOSA, N. A. A. Comparação de métodos de determinação da gravidade específica de ovos de

poedeiras comerciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.5, p.509-512, 2004.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Os probióticos**. 2011. Disponível em: <revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060596087001465308998.pdf>. Acesso em: 30 de jan. de 2020.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.66, n.5, p.365-378, 1989.

FULLER, R.; GIBSON, G. R. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.32, p.28–31, 1997.

GARCIA, D. M. **Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas de interação avícola**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 50 f. 2004.

GIAMPAULI, J.; PEDROSO, A. A.; MORAES, V. M. B. Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras após a muda forçada suplementadas com probiótico em diferentes fases de criação. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, p.179-186, 2005.

GONZALES, E.; MELLO, H. H. C. de.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, ano XIII, n.13, 2012.

HAYES, J. R. CARR, L. E.; MALLISON, E. T.; DOUGLASS, L. W.; JOSEPH, S. W. Characterization of the contribution of water activity and moisture content to the population distribution of *Salmonella spp.* In commercial poultry houses. **Poultry Science**, n.79, p. 1557-1561, 2000.

HUNKA, E. **Probióticos e sua relação com o sistema imune das aves**. 2017. Disponível em:< <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/probioticos-e-sua-relacao-com-a-imunidade-das-aves-por-eva-hunka/20170920-135516-t432>>. Acesso em: 29 de jan. 2020.

_____. **Instrução Normativa Nº 25**. Diário Oficial da União de 23/07/2009, Seção 1, p.20, 28 de jul., 2009.

_____. **Instrução Normativa Nº 45**. Diário Oficial da União de 22/11/2016, Seção 1, p.6, 30 de nov., 2016.

_____. **Instrução Normativa Nº 1**. Diário Oficial da União de 13/01/2020, Seção 1, p.8, 23 de jan., 2020.

IQBAL, M.A.; ROOHI, N.; AKRAM, M.; KHAN, O. Egg quality and egg geometry influenced by mannanoligosaccharides (MOS), a prebiotic supplementation in four closebred flocks of japanese quail breeders (*Coturnix coturnix japonica*). **South African Journal of Animal Science**, v.47, p.641- 648, 2015.

JIN, L. Z.; HO, Y. W.; ABDULLAH, N.; JAULALUDIN, S. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. **Poultry Science**, v.77, p.1259-1265, 1998.

JORDÃO FILHO, J.; SILVA, J. H. V.; SILVA, C. T.; COSTA, F. G. P.; SOUSA, J. M. B.; GIVISIEZ, P. E. N. Energy requirement for maintenance and gain for two genotypes of quails housed in different breeding rearing systems. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2415-2422, 2011.

JUNQUEIRA, O. M.; DUARTE, K. F. 2005. Resultados de pesquisa com aditivos alimentares no Brasil. XLII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 25-28 jul., Goiânia, GO, p.169-182. 2005.

KALSUM, U.; SOETANTO H.; SJOFJAN, O. Influence of a probiotic containing lactobacillus fermentum on the laying performance and egg quality of Japanese quails. **International Journal of Poultry Science**, v. 11, p. 311-315, 2012.

KARAALP, M.; SARIKAYA, S. B. O.; AKSAKAL, V.; URUSAN, H. The effect of apple cider vinegar and mushroom stalk supplementation on laying hens. **Indian Journal of Animal Research**, v. 52, n. 10, p. 1457-1461, 2018.

LEMOS, M. J.; CALIXTO, L. F. L.; LIMA, C. A. R.; REIS, T. L.; REGO, R. S.; NAK, S. Y.; AROUCHA, R. J. N. Níveis de prebiótico na dieta sobre o desempenho e a qualidade de ovos de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.3, p. 613-625, 2014.

LEMOS, M. J. de. **Estudo comparativo da inclusão de aditivos zootécnicos na ração de codornas japonesas em produção**. 2015. Tese (Doutorado) - Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 82 p., 2015.

LEMOS, M. J. de.; CALIXTO, L. F. L.; TORRES-CORDIDO, K. A. A.; REIS, T. L. Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de corte e de postura. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.83, p. 1-7, 2016.

LEMOS, M. J. de.; CALIXTO, L. F. L.; SOUZA, D.; TORRES, K. A.; REIS, T.; COELHO, L.; FILHO, C. A. Efeito de diferentes aditivos zootécnicos sobre a qualidade de ovos em duas fases produtivas da codorna. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.3, p.751-760, 2017.

LIMA, F. V. Z.; PIZAURO JÚNIOR, J. M.; MACARI, M.; MALHEIROS, E. B. Efeito do Uso de Probiótico sobre o Desempenho e Atividade de Enzimas Digestivas de Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.200-207, 2003.

LORA, A. G. M. S. **Uso de probiótico em rações de frangos de corte**. 2006. Tese (*Magister Scientiae*). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006, 39 f.

MACARI, M.; FURLAN, R. L. **Probióticos**. Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas, Santos, SP. Anais... Facta, v. 1, p.53-72, 2005.

MACEDO, R. E. F. de.; PFLANZER JR., S. B.; TERRA, N. N.; FREITAS, R. J. S. de. Desenvolvimento de embutido fermentado por *Lactobacillus* probióticos:

características de qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.28, n.3, p. 509-519, 2008.

MALAGOLI, D. **Avaliação de alternativas ao uso de antibióticos para a produção de codornas**. 2016. Dissertação (Mestrado em Produção Animal Sustentável) – Instituto de Zootecnia. APTA/SAA, Nova Odessa. 2016.

MAPA. **Uso responsável e prudente de antimicrobianos**. 2018. Disponível em:< <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumospecuarios/programas-especiais/resistencia-antimicrobianos/uso-responsavel-e-prudente-de-antimicrobianos>>. Acesso em: 05 de set. 2019.

MATTAR, A. F.; DRONGOWSKI, R.; TEITELBAUM, D. H.; YONGYI, F. Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell-culture model. **Pediatric Surgery International**, v.18, n.7, p.586-590, 2002.

MATHEW, S.; ZAKARIA, Z. A. Pyroligneous acid—the smoky acidic liquid from plant biomass. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 2, p. 611-622, 2015.

MENEZES, T. Q. **Desempenho e Histomorfometria Intestinal de Frangos de Corte Alimentados Com Dietas Contendo Extrato Pirolenhoso**. 2017. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alegre, 2017.

METCHNIKOFF, E. **Prolongation of Life**. New York: Putnam and Sons, 1907.

MILES, C.; NISHIZAWA, M.; JÁCOME, M. F. **Uso racional de aditivos de crescimento em frangos de corte**. 2019. Disponível em: < <https://avicultura.info/pt-br/mitos-aditivos-de-crescimento-avicultura/>>. Acesso em: 30 de jan. 2020.

MIYASAKA, S. Técnicas de produção e uso de fino de carvão e licor pirolenhoso. In: ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS. CONTROLE ECOLÓGICO DE PRAGAS E DOENÇAS, 2001, Botucatu. **Resumos...** Botucatu: Agro Ecológica, p. 161-176, 2001.

MIYASAKA, S.; OHKAWARA, T.; UTSUMI, B. Ácido Pirolenhoso: uso e fabricação. **Boletim AgroEcológico**, nº 14, 1999.

MORAIS, B. M.; JACOB, C. M. A. O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. **Jornal de Pediatria**, n. 82, p.189-197, 2006.

MU, J.; UEHARA, T.; FURUNO, T. Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radicle growth of seed plant II: composition of moso bamboo vinegar at different collection temperature and its effects. **Journal of Wood Science**, Tokyo, n.5, v. 50, p. 470-476, 2004.

NETO, R. A.; DENIZO, N.; QUAST, D. G. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.7, p.191-206, 1976.

NÉVOA, M. L.; CARAMORI JUNIOR, J. G.; VIEITES, F. M.; NUNES, R. V.; VARGAS JUNIOR, J. G. de.; KAMIMURA, R. Antimicrobianos e prebióticos nas dietas de animais não ruminantes. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.12, p.85- 95, 2013.

NIKPIRAN, H.; VAHDATPOUR, T.; BABAZADEH, D.; VAHDATPOUR, S. Effects of *Saccharomyces cerevisiae*, Thepax and their combination on blood enzymes and performance of japanese quails (*Coturnix coturnix*). **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v.23, n.2, p.369-379, 2013.

NUNES, R. V.; SCHERER, C.; SILVA, W. T. M.; APPELT, M. D.; POZZA, P. C.; VIEITES, F. M. Avaliação de probiótico na alimentação de poedeiras comerciais no segundo ciclo de postura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.1, p.248-254, 2013.

NUNES, T. S. **Extrato pirolenhoso para codornas japonesas em postura**. 2019. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alegre, 2019.

OLIVEIRA, B. L.; VALLE, R. H. P.; BRESSAM, M. C.; CARVALHO, E. P. **Tecnologia de ovos**. Lavras: UFLA, p. 75, 2001.

OLIVEIRA, B. L. Importância do manejo na produção de ovos de codornas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COTURNICULTURA. 2004, **Anais...** Lavras: NECTA, p.91-96, 2004.

OLIVEIRA, R. F. M. D.; DONZELE, J. L.; ABREU, M. L. T. D.; FERREIRA, R. A.; VAZ, R. G. M. V.; CELLA, P. S. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 797-803, 2006.

OTUTUMI, L. K.; FURLAN, A. C.; MARTINS, E. N.; NAKAMURA, C. V.; GARCIA, E. R. M. de.; LOOSE, P. V. Diferentes vias de administração de probiótico sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a população microbiana do intestino delgado de codornas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, 2010.

OZEK, K.; WELLMANN, K. T.; ERTEKIN, B.; TANM, B. Effects of dietary herbal essential oil mixture and organic acid preparation on laying traits, gastrointestinal tract characteristics, blood parameters and immune response of laying hens in a hot summer season. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 20, p. 575-586, 2011.

PEDROSO, A. A.; MORAES, V. M. B.; ARIKI, J. Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras de 50 a 66 semanas de idade suplementadas com probiótico. **Ciências Rural**, Santa Maria, v.31, n.4, p.683, 2001

PIRES, M. F. **Desempenho, qualidade de ovos e parâmetros intestinais de poedeiras leves alimentadas com rações contendo butirato de sódio protegido**. 2016. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Goiás – Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia, 74 f., 2016.

QUADROS, D. G.; JESUS, T. R.; KANEMATSU, C. H.; SÁ, A. M.; SILVA, G. A. V.; SILVA, A. L. R.; ANDRADE, A. P. Qualidade de ovos de galinha comercializados em Barreiras, BA, estocados em diferentes condições de temperatura. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 9, n. 4, p. 363-369, 2011.

R CORE TEAM (2015). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>.

RIBEIRO JUNIOR, V. **Suplementação dietética de probióticos para galinhas poedeiras**. Dissertação (*Magister Scientiae*), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. D.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. de.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3ª ed., Viçosa: Editora: UFV – DZO, 2011. 252p.

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

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

SANTOS, R. C. do. **Anacardato de cálcio como fonte de ácido anacárdico na alimentação de codornas japonesas em postura**. 2014. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Ceará, Fortaleza, 2014.

SARI, M.; ISIK, S.; ONK, K.; ISIK, S.; TILKI, M. Effects of layer age and different plumage colors on external and internal egg quality characteristics in japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Archiv fur Geflugelkunde**, v.76, p.254-258, 2012.

SAUVEUR, B. **El huevo para consumo: bases productivas**. Barcelona: Aedos Editorial, 377p., 1993.

SCOTT, W. J. Walter relation of food spoilage microorganisms. **Advances in Food Research**, v. 7, p.83-127, 1957.

SCHWARZ, K. K. **Substituição de antimicrobianos por probióticos e prebióticos na alimentação de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná. 46p. 2002.

SILVA, E. N. **Alimentos funcionais para aves: prebióticos e probióticos na alimentação avícola**. Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas. Campinas - SP. Anais... Facta, v. 2, p.241- 251, 2000.

SHALAEI, M.; HOSSEINI, S.M.; ZERGANI, E. Effect of different supplements on eggshell quality, some characteristics of gastrointestinal tract and performance of laying hens. **Veterinary Research Forum - Autumn**, v. 5, n. 4, p. 277-286, 2014.

SHIBATA, T. **Perguntas e Respostas - Existe relação entre A_w e umidade?** 2018. Disponível em: <<http://aqualab.decagon.com.br/noticias/perguntas-e-respostas-existe-relacao-entre-aw-e-umidade/>>. Acesso em: 13 de set. 2019.

SILVA, E. N.; ANDREATTI FILHO, R. L. **Probióticos e prebióticos na avicultura.** II Simpósio de Sanidade Avícola, Santa Maria – RS, p.45–55, Setembro de 2000.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de. **Análises de Alimentos: Métodos químicos e biológicos.** 3ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2002, 235p.

SILVA, F. H. A. **Curso teórico-prático sobre técnicas básicas de avaliação de qualidade do ovo.** Piracicaba: ESALQ, 2004.

SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P. **Tabela para codornas japonesas e europeias.** 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 110p., 2009.

SILVA, J. H. V.; JORDÃO FILHO, J.; COSTA, F. G. P. LACERDA, P. B.; VARGAS, D. G. V.; LIMA, M. R. Exigências nutricionais de codornas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, p.775-790, 2012.

TODORIKI, K.; MUKAI, T.; SATO, S.; TOBA, T. Inhibition of adhesion of food-borne pathogens to Caco-2 cells by *Lactobacillus* strains. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.154-159, 2001.

UNIÃO EUROPEIA. Regulamentos, diretivas. Diretiva 96/22/CE de 29 de Abril de 1996. **Jornal Oficial**, maio 1996, nº L 125, p.003-009. Relativa à proibição do uso de certas substâncias com efeitos hormonais ou tireostáticos e de substâncias beta-antagonistas em produção animal e que revoga as Diretivas 81/602/CEE, 88/146/CEE e 88/299/CEE.

VAN DER BERG, C.; BRUIN, S. Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects. In: ROCKLAND, L. B.; STEWART, G. F. (Eds.). **Water Activity: Influences on food quality.** New York: Academic Press, 1981.

VASSALO, M.; FIALHO, E. T., OLIVEIRA, A. I. G.; TEIXEIRA A. S.; BERTECHINE A. G. Probióticos para leitões dos 10 aos 30kg de peso vivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, p.131-138. 1997.

VIEIRA, R. P.; MOKOCHINSKI, J. B.; PALMA, L. C.; LIDOINO, V. G.; HALASZ, M. R. T. **Caracterização química do extrato pirolenhoso oriundo da carbonização.** XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis – SC. 2014.

WATARAI, S.; TANA. Eliminating the Carriage of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in Domestic Fowls by Feeding Activated Charcoal from Bark Containing Wood Vinegar Liquid (Nekka-Rich). **Poultry Science**, v. 84, p. 515 – 521, 2005.

WELTI, J.; VERGARA, F. Atividade de água/ Conceito y aplicación em alimentos com alto contenido de humedad. In: AGUILERA, J. M. **Temas en Tecnologías de Alimentos.** Santiago, Chile, v.1, p.11-26, 1997.

YAMAUCHI, K.; MANABE, N.; MATSUMOTO, Y.; YAMAUCHI, K. Exterminating Effect of Wood Vinegar to Red Mites and its Safety to Chickens. **The Journal of Poultry Science**, v. 51, n. 3, p. 327-332, 2014.

ZANATTA, C. P., FELIX, A. P., BRITO, C. B., DOMINGUES, L., OLIVEIRA, S. G., MAIORKA, A. **Atividade de água na produção de alimentos secos extrusados para cães e gatos**. In: III Congresso Internacional e X Simpósio sobre nutrição de animais de estimação - CBNA. Campinas – SP, Maio de 2011.

ZAREI, M.; EHSANI, M.; TORKI, M. Dietary inclusion of probiotics, prebiotics an synbiotic and evaluating performance of laying hens. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v.6, p.249-255, 2011.

ZHU, Y. Z. **Detoxification Effects of Wood Vinegar on Aflatoxin B1 in Broiler Chicken**. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v, 12., p. 1256-1259, 2013.

ZITA, L.; LEDVINKA, Z.; TUMUVA, E.; KLESALOVA, L. Technological quality of eggs in relation to the age of laying hens and Japanese quails. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p.2079-2084, 2012.

ANEXO

ANEXO A – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO CAMPUS DE ALEGRE – CEUA – ALEGRE

Universidade Federal
do Espírito Santo



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada ***“Aditivos não nutrientes para codornas japonesas em postura”***

Registrada sob o n.º **030/2019**, sob a responsabilidade de **Dr. José Geraldo de Vargas Junior**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.167 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CAMPUS DE ALEGRE (CEUA-ALEGRE) do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes).

Vigência da autorização: dezembro/2019 a maio/2020

Finalidade: Pesquisa

Espécie(s): *Coturnix coturnix japonica*

Linhagem(ns)/raça(s): variável

Peso: 160g

Idade: 400 dias

Sexo: Fêmea

Número de animais: 891

Origem: granja / incubatório comercial - Granja Fujikura (William Shuhei Fujikura).

Alegre-ES, 11/12/2019

Prof. Dr. Leonardo Oliveira Trivilin

Coordenador da CEUA-ALEGRE