

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**SUBPRODUTOS DA UVA PARA UTILIZAÇÃO EM  
DIETAS DE FRANGO DE CORTE**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Rui Rotava**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2007**

# **SUBPRODUTOS DA UVA PARA UTILIZAÇÃO EM DIETAS DE FRANGO DE CORTE**

**Por**

**Rui Rotava**

Defesa de dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração de Nutrição de não-ruminantes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia.**

Orientador : Prof. Irineo Zanella

Santa Maria, RS, Brasil  
2007

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

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

**SUBPRODUTOS DA UVA PARA UTILIZAÇÃO EM DIETAS DE  
FRANGO DE CORTE**

Elaborada por

**Rui Rotava**

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

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**Irineo Zanella, Dr. (UFSM)  
(Presidente/Orientador)**

**José Henrique Stringhini, Dr. (UFG)**

**Juarez Morbini Lopes, Dr. (UFSM)**

Santa Maria, 19 de dezembro de 2007

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha família, especialmente a Katya e ao Akauã pelo amor, incentivo, força e inspiração.

## **AGRADECIMENTOS**

Meus agradecimentos às pessoas e instituições que tornaram possível este trabalho.

Ao Prof. Irineo Zanella pela orientação, amizade, conhecimento.

Aos Professores Alexandre Pires Rosa, Paulo Alberto Lovatto, José Henrique da Silva, Luís Felipe Dias Lopes, José Laerte Nörnberg, Clóvis Clênio Diesel Senger, Juarez Morbini Lopes, e Janio Morais Santurio pelo conhecimento e contribuição.

Aos co-autores Melânia Palermo Manfron, Carla Speroni Ceron, Sydney Hartz Alves, Leila Picolli da Silva, Cristiane Casagrande Denardin, Edilson Gonçalves Campos, Aline Pain, Ana Kátia Karkow, Ana Paula Dullius, pela ajuda e sabedoria.

Ao Laboratório de Avicultura, através de seus professores, funcionários, Lourdes Bernadete Padilha Brittes, Sandro, Jaqueline, bolsistas, estagiários, estudantes, pela amizade e estímulo.

Aos meus colegas Diego Galvani, Volnei Weschenfelder, Péricles Boeschat, Carlos Agnolin, Rodrigo Utppatel, pela amizade e conhecimento.

Aos técnicos científicos Vilson e Vera pela cooperação e conhecimento.

Doutorandos Carlos Rossi e Janete Amador pela amizade e conhecimento.

À secretária executiva Olirta Giuliani pela amizade e sugestões.

Aos meus sobrinhos Gabriel e Felipe pelo convívio, paciência e troca de conhecimentos.

A UFSM, Departamento de Zootecnia através do Laboratório de Avicultura e de Nutrição Animal. Ao Dpto. de Farmácia Industrial, através do Laboratório de Farmacognosia. Ao Dpto. de Microbiologia e Parasitologia, através do Laboratório de Pesquisas Micológicas, Ao Dpto. de Tecnologia de Alimentos, através do Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais, seus professores, funcionários, estudantes e monitores, pelos serviços prestados.

Ao Dr. Luis Rizzon, Cnpuv - EMBRAPA, Bento Gonçalves, pelo apoio e conhecimento.

As Empresas Golden Sucos Ltda, Casa Valduga Ltda, Vitagri Ltda. Tanac S.A. e Doles Reagentes pela gentileza em contribuir com a pesquisa.

Finalmente agradeço à minha empresa ASCAR-EMATER/RS por permitir e estimular a pós-graduação como método de capacitação e qualificação técnica.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar *in vitro* a composição centesimal, a atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva (*Vitis vinifera*) para seu aproveitamento na indústria avícola. O conteúdo de fibra bruta do bagaço foi de 31,6% e de lignina das sementes foi de 61,2%. As sementes prensadas renderam 13,4% de óleo bruto, cuja composição de ácidos graxos tem 67,73% de ácido linoléico. Para serem estudados como aditivos em dietas para aves compostos polares foram extraídos da semente de uva desengordurada numa solução com acetona: água: ácido acético, resultando em 10,3% de rendimento de extrato de semente de uva desengordurada (ESUD) que, quando analisado, evidenciou a presença de taninos condensados e pigmentos antociânicos. O ESUD apresentou atividade antibacteriana alta contra cepas de *S. aureus* e *E. coli* mas não contra *Salmonella sp.* A atividade antioxidante do ESUD apresentou um percentual de inibição do 1,1-difenil-2-picrilhidrazila comparável ao ácido ascórbico, cujo efeito atingiu seu máximo em concentrações de 200µg/ml. A capacidade de complexar proteínas dos taninos foi considerada baixa para a semente e alta para a ESUD. Posteriormente foram avaliados os efeitos da inclusão de subprodutos da uva como aditivos nas dietas de frango de corte sobre variáveis de desempenho zootécnico e digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), matéria orgânica (CDMO) e proteína bruta (CDPB), níveis plasmáticos de colesterol, triglicerídeos, proteínas totais e glicose, além de pH cecal. Foram utilizados 600 pintos de corte machos Ross, de 1 a 21 dias de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos, cinco repetições de 10 aves, inoculados ou não com cepas de *Escherichia coli*, constituindo um fatorial 6x2. Utilizou-se ração inicial para a criação constituindo os seguintes tratamentos: T1-controle negativo; T2-0,05% de flavomicina e sulfato de colistina –controle positivo; T3-0,04% ESUD; T4-0,1% de semente de uva integral (SUI); T5-0,47% de SUI e T6-2,35% de SUI. A inclusão de subprodutos da uva não influenciou as variáveis zootécnicas, coeficientes de digestibilidade, nem as taxas de colesterol, mas diminuiu os níveis de triglicerídeos plasmáticos. A inoculação piorou o peso final, o ganho de peso, diminuiu os níveis plasmáticos de proteínas totais, aumentou triglicerídeos e glicose e quando associada com o ESUD melhorou o CDMO. Os resultados contraditórios indicam a necessidade de novos experimentos.

Palavras chave: atividade antimicrobiana, atividade antioxidante, taninos, frango de corte, desempenho zootécnico, parâmetros bioquímicos plasmáticos, subprodutos da uva

## ABSTRACT

The aim of this experiment was to determine *in vitro* the composition, the antibacterial, antioxidant and tanning activity of grape by-products (*Vitis vinifera*) for its exploitation in the poultry industry. The crude fiber content of the pomace was 31,6% and for lignin of the seeds it was 61,2%. The pressed seeds contained 13,4% of crude oil, whose composition of fat acid has 67,73% of linoleic acid. To be studied as growth promoter of birds, polar compound had been extracted from the defatted grape seed in a solution with acetone: water: acid ascorbic, resulting in 10,3% of extract from the defatted grape seed extract (ESUD) that, when analyzed, evidenced the presence of anthocyanic pigments and condensed tannins. The ESUD presented high antibacterial activity against strains of *S. aureus* and *E. coli*, but not against *Salmonella sp.* The antioxidant activity of the ESUD presented a percentage of inhibition of 1,1-difenil-2-picrilhidrazila comparable to the ascorbic acid, whose effect reached its maximum at 200 µg/ml. The capacity of tannins to bind protein was considered low for the seed and SUD and high for the ESUD. Later on, the inclusion effect of the grape seed and by-product as additives in the diets of poultry upon growth performance had been evaluated for apparent digestibility of the dry matter (CDMS), organic matter (CDMO) and crude protein (CDPB), blood levels of cholesterol, triglycerides, total proteins and glucose, beyond cecal pH. Six hundred day old Ross chicks were distributed in completely randomized design, from 1 to 21 days of age, with six treatments, five repetitions of 10 birds, inoculated or not with strains of *E. coli*, constituting a 6x2 factorial. Initial feed was used constituting the following treatments: T1-negative control; T2-positive control-0.05% of flavomycin and colistin sulphate; T3-0,04% extract of ESUD; T4-0,1% of grape seed (SUI); T5-0,47% of SUI and T6-2,35% of SUI. The inclusion of grape by-products did not influence the rates growth parameters, apparent digestibility or cholesterol levels but decrease levels of blood triglycerides. The inoculation decreased body weight, the weight gain, decreased the levels of blood total protein, and increased triglycerides and glucose and when associated with the ESUD, improved the CDMO. The contradictory results indicate the need for further experiments.

Words key: antibacterial activity, antioxidant activity, by-products grape, blood biochemical parameters, growth performance, poultry, tannins.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Composição de bagaço e da semente de uva (%MS) .....	26
Tabela 2-Composição de ácidos graxos de óleo de semente de uva (%).....	27
Tabela 3-Atividade antibacteriana do extrato de semente de uva desengordurada contra diferentes bactérias (% de cepas inibidas).....	28
Tabela 4-Substâncias com atividade tanante, não-tanante, insolúveis, umidade e adstringência de subprodutos da uva.....	29
Tabela 5-Ingredientes, composição centesimal e valor calculado das dietas de aves de 1 a 21 dias de idade.....	38
Tabela 6-Efeito dos tratamentos, da inoculação e probabilidades sobre o consumo de ração (CR/g), peso final (PF/g), de ganho de peso médio (GPM/g), conversão alimentar (CA), ganho de peso médio diário por ave (GPMD/g/d) e índice de eficiência produtiva (IEP) de 1 a 21 dias de idade.....	42
Tabela 7-Efeito dos tratamentos, da inoculação e probabilidades sobre o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS ap / %), da matéria orgânica (CDMO ap / %) e da proteína bruta (CDPB ap / %).....	44
Tabela 8-Efeito dos tratamentos, da inoculação e probabilidades sobre o sobre triglicerídeos (mg/dl), colesterol (mg/dl), proteínas totais (g/dl), glicose plasmática (mg/dl) e pH cecal aos 21 dias.....	45
Tabela 9-Comparação de médias de triglicerídeos entre lote não inoculado (NI) e inoculado (I) aos 21 dias de idade.....	46
Tabela 10-Comparação de médias de glicose entre lote não inoculado (NI) e inoculado (I) aos 21 dias de idade.....	48

Tabela 11-Comparação de pH cecal entre lote não inoculado (NI) e inoculado (I) aos 21 dias de idade.....	49
--	----

## **LISTA DE GRÁFICOS**

Gráfico 1- Porcentagem de inibição do radical livre DPPH pelo extrato da semente de uva (▲) e do ácido ascórbico (□).....	29
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AO .....	Ácidos orgânicos
APC.....	Antibióticos promotores de crescimento
AT.....	Ácido tânico
CA.....	Conversão alimentar
CBM.....	Concentração bactericida mínima
CCR.....	Centro de ciências rurais
CCS.....	Centro de ciências da saúde
CDMO.....	Coefficiente de digestibilidade da matéria orgânica
CDMS.....	Coefficiente de digestibilidade da matéria seca
CDPB.....	Coefficiente de digestibilidade da proteína bruta
CE.....	Comunidade européia
CIM.....	Concentração inibitória mínima
COL.....	Colesterol plasmático total
CR.....	Consumo de ração
DB.....	Dieta basal
DIC.....	Delineamento inteiramente casualizado
DIVMS.....	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
DIVMO.....	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica
DPPH.....	1,1-difenil-2-picrilhidrazila
EE.....	Extrato etéreo
ENN.....	Extrato não-nitrogenado
ESUD.....	Semente de uva desengordurada
FDA.....	Fibra detergente ácida

FDN.....	Fibra detergente neutra
FB.....	Fibra bruta
GLP.....	Glicose plasmática total
GP.....	Ganho de peso
GPMD.....	Ganho de peso médio diário
IEP.....	Índice de eficiência produtiva
PB.....	Proteína bruta
pH.....	Potencial hidrogenionico
PF.....	Peso final
MG.....	Média geométrica
MO.....	Matéria orgânica
MS.....	Matéria seca
PRT.....	Proteína plasmática total
SUD.....	Semente de uva desengordurada
SUI.....	Semente de uva integral
TC.....	Tanino condensado
TH.....	Tanino hidrolisável
TGI.....	Trato gastrointestinal
TRG.....	Triglicerídeos plasmáticos

## **LISTA DE ANEXOS**

ANEXO A - Distribuição dos tratamentos nas baterias.....	67
ANEXO B - Área reservada para lote inoculado.....	68
ANEXO C - Ensaio de digestibilidade.....	69
ANEXO D - Coleta de sangue para bioquímica sanguínea.....	70

## SUMÁRIO

RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	7
LISTA DE TABELAS .....	8
LISTA DE GRÁFICOS .....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	11
LISTA DE ANEXOS.....	13
SUMÁRIO.....	14
1-INTRODUÇÃO.....	16
2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1-PROMOTORES DE CRESCIMENTO .....	18
2.2-COMPOSTOS FENÓLICOS.....	19
2.3-SUSTENTABILIDADE ECONÔMICA E AMBIENTAL .....	21
3-ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	23
3.1-CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE SUBPRODUTOS DA UVA PARA UTILIZAÇÃO NA INDÚSTRIA AVÍCOLA E NA CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS..	23
3.1.1-INTRODUÇÃO.....	24
3.1.2-MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1.3-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
3.1.4-CONCLUSÃO .....	30
3.1.5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
3.2- UTILIZAÇÃO DE SUBPRODUTOS DA UVA EM DIETAS DE FRANGO DE CORTE.....	34
3.2.1-INTRODUÇÃO.....	36
3.2.2-MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.2.3-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41

3.2.4-CONCLUSÃO .....	50
3.2.5-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	50
4-DISCUSSÃO GERAL .....	55
5-CONCLUSÃO GERAL .....	59
6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS.....	60
ANEXOS.....	67

## 1-INTRODUÇÃO

A indústria avícola brasileira enfrenta dificuldades para exportar carne de frango e derivados em função de restrições impostas por importadores, por causa da presença de antibióticos nas dietas alimentares. Isto limita a utilização de promotores de crescimento tradicionais e estimula a pesquisa de alternativas para atender esta demanda. Cresce também o interesse da utilização de compostos naturais, para aumentar a vida útil de produtos destinados à alimentação humana, de cosméticos e medicamentos.

As evidências de que compostos fenólicos contidos na uva e derivados tem propriedades farmacológicas, seja na forma pura ou extrato, incluindo cascas ou até mesmo a fruta ou vinho já foram estudadas e comprovadas por JAYAPRAKASHA *et al.* (2003), BAYDAR *et al.* (2006) e RHODES *et al.* (2006).

A utilização de subprodutos como forma de aumentar a rentabilidade dos agricultores é preconizada por técnicos e empresas de assistência técnica e extensão rural que priorizam o aumento da sustentabilidade econômico-social, através do aproveitamento de subprodutos e o respeito ao meio ambiente (EMATER/RS, 2006).

O objetivo deste trabalho foi determinar a composição centesimal, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica e a atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva (*Vitis vinifera*), para seu possível aproveitamento em dietas na indústria avícola. Posteriormente foram avaliados os efeitos da inclusão de subproduto da uva em dietas de frango de corte, submetidos ou não a desafio bacteriano, sobre variáveis de desempenho zootécnico, como ganho de peso, ganho de peso médio diário, peso final, consumo de ração, conversão alimentar, índice de eficiência produtiva. Também foram avaliados os efeitos sobre digestibilidade aparente da matéria seca, da matéria orgânica, da proteína bruta, níveis plasmáticos de triglicerídeos, colesterol, proteína total, glicose e pH cecal.

## 2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No ano de 2004, o Brasil conquistou a condição de maior exportador mundial de carne de frango ao superar os Estados Unidos em percentagem superior a 13%. Para 2007, o País deve consolidar esta condição, considerando que as estimativas apontam para um total a ser exportado superior a 3.200 mil toneladas. Este aumento de volume exportado está acompanhado também pelo aumento de consumo interno do brasileiro, já que em 1989 a quantidade consumida era de 12,73 kg/ habitante e em 2006 foi de 35,68 kg/ habitante. A exportação representa hoje quase 30% do volume produzido de carne de frango de 9.355 mil toneladas. (ABEF, 2007).

Esta condição pode, no entanto, modificar-se já que as exportações da carne de frango vêm sofrendo restrições, por parte dos países importadores, em função da utilização de antibióticos em dietas. Estas restrições, principalmente de caráter sanitário, têm limitado a utilização de promotores de crescimento tradicionalmente utilizados e estimulado a pesquisa de alternativas para atender esta demanda e manter a cadeia produtiva (LANGHOUT, 2005).

Inúmeros trabalhos já demonstraram a importância da utilização de promotores de crescimento sobre desempenho produtivo quando utilizados em dietas de frango de corte. Aditivos como antibióticos e quimioterápicos são utilizados para atingir resultados zootécnicos superiores (LESSON *et al.* 2001). Desde 1950, substâncias como penicilina e tetraciclina, bacteriostáticos ou bactericidas, derivados de aminoácidos como as penicilinas, de açúcares como os aminoglicosídeos e de hidrocarbonetos como a eritromicina são utilizados em espécies como aves e suínos (BUTOLO, 2002).

O uso sistemático dos antibióticos promotores de crescimento (APC) na alimentação das aves domésticas está relacionado com a possibilidade de ocorrência de resistência bacteriana. Antibióticos usados por um período de tempo suficientemente longo, levarão as bactérias a se tornarem mais resistentes a antibióticos. Por esta razão, os promotores de crescimento tendem a ser menos eficientes com o transcorrer do tempo, o que estimula a constante pesquisa de novos produtos (LESSON *et al.* 2001).

A proibição de utilização de APC tem sido mais freqüente com o passar do tempo. Países da Comunidade Européia (CE) começaram a associar, em 1969, antibióticos à resistência bacteriana. Em 1986, a Suécia proibiu a utilização de APC. Em 1992, o Japão restringiu a utilização de APC em função do limite de resíduos. A avoparcina foi proibida em

toda a CE em 1997. Em 1998, o Brasil banuiu antibióticos como oxitetraciclina, penicilina, cloranfenicol, sulfonamidas, furazolidona, nitrofurazona, avoparcina, ácido arsanílico e nitrovin. Neste mesmo ano a Dinamarca proibiu qualquer APC e a CE, em 1999, banuiu o uso de tilosina, virgiamicina, espiramicina e bacitracina de zinco. Em 2002, o Brasil proibiu a utilização da maioria dos nitrofuranos, arsenicais e antimoniais (MAPA, 2007). Finalmente, em 2006, ficou proibida, na CE, a utilização de qualquer antibiótico em rações de aves e suínos (FRANÇA, 2006).

## 2.1-Promotores de crescimento

A utilização de promotores de crescimento como os probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, enzimas e aditivos fitogênicos em dietas de frangos de corte, há muito tempo utilizados, podem proporcionar às aves o mesmo desempenho semelhante dos promotores de crescimento convencionais e se constituem em alternativas para manter a viabilidade econômica da cadeia produtiva (BATISTA, 2005).

As bactérias dos gêneros *Enterococcus*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, normalmente são utilizadas como probióticos, sendo que sua ação pode se dar por competição por sítios de ligação, exclusão competitiva, caracterizando como barreira física impedindo a proliferação de patógenos; produção de agentes antibacterianos como ácidos orgânicos e enzimas como a hidrolase de sais biliares; competição por nutrientes e estímulo do sistema imune. Também existem outras ações benéficas que são atribuídas ao uso de probiótico em aves como a redução da produção de amônia, auxílio na redução de amins biogênicas tóxicas e produção de vitaminas do complexo B (BATISTA, 2005).

Os prebióticos, como mananoligossacarídeos e frutoligossacarídeos, são oligossacarídeos normalmente utilizados para a suplementação de rações. Estes compostos atuam bloqueando os sítios de aderência e reduzindo a capacidade de fixação de algumas bactérias patogênicas na mucosa intestinal. Quando os prebióticos são adicionados à ração, a especificidade de sua fermentação estimula o crescimento e a estabilidade das populações microbianas produtoras de ácidos orgânicos, em especial láctico e acético, em detrimento das demais bactérias. Estes compostos reduzem o pH do lúmen intestinal e, juntamente com outras substâncias antibacterianas e enzimas produzidas por esta mesma microbiota, inibem a proliferação dos microorganismos patogênicos sensíveis a ambientes ácidos como *Escherichia coli*, *Clostridium sp.* e *Salmonella* (DA SILVA *et al.* 2003).

A redução de pH do trato gastrointestinal (TGI) parece não ser o único modo de ação dos ácidos orgânicos (AO). Tanto em aves como suínos, os AO podem inibir reações metabólicas essenciais (glicólise), romper paredes celulares bacterianas, alterar a homeostasia do pH intracelular, acumular ânions tóxicos ou quelatar agentes permeabilizantes da membrana como Zinco. O fundamental é que os AO na forma não-ionizada (não-dissociada) podem penetrar para dentro da parede bacteriana, alterar processos fisiológicos e provocar variações do gradiente de pH. Já os óleos essenciais (OE) compõem um grupo de extratos vegetais e aditivos fitogênicos, que atuam modulando a microflora do TGI. Nove grupos de OE são conhecidos em composição com diferentes moléculas contidas no vegetal, cuja eficácia dependerá de fatores como: variedade, solo, umidade, clima, colheita, etc. Eles alteram a biologia da membrana celular bacteriana. (GAUTHIER *et al.* 2005)

## **2.2-Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são derivados do ácido benzóico e do ácido cinâmico. Estes derivados são obtidos pela fixação da hidroxila ou dos grupos metoxila. Os ácidos fenólicos estão no estado livre ou esterificados, insolúveis e concentrados principalmente dentro do pericarpo das sementes, cuja atividade antimicrobiana e antifúngica elevada pode explicar sua função protetora. Os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água, com peso molecular normalmente entre 500 e 3000 Daltons (variando até 28000), os quais formam complexos insolúveis em água com alcalóides, gelatina e outras proteínas, determinando assim características antinutricionais quando utilizados em dietas de monogástricos. (LARBIER *et al.* 1992).

Em função de sua estrutura molecular e reatividade os taninos são classificados como hidrolisáveis (TH) ou condensados (TC). De ocorrência rara na natureza, os TH têm baixo peso molecular (500-3000) e sob atividade enzimática ou condições ácidas são clivados em monossacarídeos e ácidos gálicos (galataninos) ou ácido elágico (elagitaninos). Os TC não têm núcleo carboidrato e são polímeros de unidade flavonóides (polihidroxi-flavan-3-ol) de alto peso molecular (1900-28000). A clivagem hidrolítica dos TC gera antocianidinas, também denominada de proantocianidina, pelo fato de produzirem pigmentos avermelhados ou, mais genericamente, de poliflavonóides. Embora a procianidina e prodelfinidina sejam

comumente encontrados como importantes unidades de repetição dos TC, mais de oito compostos podem ser encontradas a partir de diferentes fontes vegetais. Variações no tipo e no tamanho da cadeia do polímero são responsáveis por diferenças na atividade biológica e reatividade destes compostos. (SANTOS *et al.* 2004).

É preciso considerar as diferenças entre taninos com relação a sua metabolização. Os TH causam efeitos tóxicos, especialmente hepáticos, sendo, portanto absorvidos e metabolizados (JANSMAN, 1993). Já os TC têm pequenos efeitos sistêmicos, sendo seus efeitos deletérios se manifestando quase que exclusivamente a nível de TGI. O mesmo autor considera que os efeitos negativos dos taninos para monogástricos dependem de outros fatores, como a variável zootécnica observada, a concentração de taninos, a duração do teste, a espécie e idade animais, a composição da dieta e o nível tecnológico empregado. Os efeitos negativos dos TH em monogástricos são provocados pelo sabor amargo, adstringência e a capacidade de precipitar proteínas e carboidratos, que diminuem a palatabilidade, consumo de ração, ganho de peso e piorando a conversão alimentar, além de reduzir o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta, de aminoácidos e fracamente, a energia. Os taninos hidrolisados são absorvidos em todo o trato gastrointestinal e excretados via urinária e que, para tanto, exigem a suplementação de enxofre, na forma pura ou na composição dos aminoácidos, como metionina e histidina, doadores de grupos metil, necessários para a excreção urinária de metabólitos (GÜL *et al.* 2005; MANSOORI *et al.* 2007).

Para JANSMAN (1993) o ácido tânico (AT), um TH, aumenta os níveis de glicosamina e ácido siálico em ratos, indicadores de hipersecreção de muco, aumento da secreção de pepsina e diminuição da concentração de mucina. Fatores que justificam o aparecimento de úlceras gástricas. Além disso, diminuem a atividade da enzima succinil desidrogenase, indicadora da atividade mitocondrial. Esta hipersecreção intestinal também foi observada por MANSOORI *et al.* (2007), perdendo mais compostos nitrogenados e aumento do catabolismo de proteínas endógenas, como as contráteis, na tentativa de eliminar AT ingerido ou detoxicar seus metabólitos. Os mesmos autores observaram que as altas taxas de excreção de metionina e histidina eram justificadas pela afinidade destes aminoácidos com o ácido tânico. Constataram também que estes aminoácidos seriam doadores de grupo metil para formação e eliminação urinária de 4- orto- metil-galato. O aumento da atividade de enzimas hepáticas como catepsina A e B verificado nas aves que receberam AT revela a

intensa degradação enzimática de aminoácidos hepáticos e o aumento da atividade proteolítica hepática e como consequência a diminuição de ganho de peso devido alterações no catabolismo protéico e nos valores nutritivos da dieta.

Os compostos fenólicos presentes em subprodutos de uva já tiveram sua atividade antibacteriana determinada por autores como JAYAPRAKASHA *et al.* (2003) que extraíram e identificaram monômeros da procianidina presentes em extratos de semente de uva da cv. *Bangalore* e observaram que níveis de 850-1000 ppm inibiram o crescimento de bactérias GRAM<sup>+</sup> e 1250-1500 ppm inibiram GRAM<sup>-</sup>. BAYDAR *et al.* (2004) também testaram extratos de sementes e bagaço de uva e constataram inibição significativa do crescimento bacteriano, com variações em função da bactéria testada, do extrator e da concentração de compostos fenólicos utilizada, e RHODES *et al.* (2006), constataram forte inibição de crescimento da *Listeria monocytogenes* ao utilizarem compostos fenólicos de uva.

A quantificação de compostos fenólicos, como os taninos, pode ser determinada por diferentes métodos. A determinação de substâncias com atividade tanante, ou seja, com capacidade de conjugar-se com proteínas, é normalmente utilizada pela indústria de processamento de couro e pode ser um indicativo para estimar a concentração de taninos e a atividade deletéria destes compostos.

### **2.3-Sustentabilidade econômica e ambiental**

A busca por alternativas que preservem o meio ambiente e permitam ao meio rural maior sustentabilidade estão de acordo com princípio éticos e técnicos de extensionistas e empresas de assistência técnica e extensão rural, como a EMATER/RS (2007) cuja missão é:

“Promover ações de Assistência Técnica e Extensão Rural, visando ao desenvolvimento rural sustentável, através da melhoria da qualidade de vida, da segurança e soberania alimentar, da geração de emprego e renda e da preservação ambiental”.

Para se atingir o desenvolvimento rural pleno, é preciso satisfazer necessidades sociais básicas, reduzir desperdícios e cuidar do meio ambiente; reciclar recursos naturais renováveis,

gestionar ecologicamente os recursos e conservar recursos naturais como água e solo (MENEGATTI, 2006).

O destino de resíduos gerados pela produção e industrialização da uva se constitui em problema de caráter ambiental e logístico. Em 2006, a produção de uvas no Brasil foi superior a 423 mil toneladas (UVIBRA, 2007). Segundo TORRES *et al.* (2002), 13 % de subprodutos gerados pela indústria vinícola são descartados, gerando quase 55 mil toneladas de resíduos que poderiam ser melhor aproveitados. Quando não utilizados para fertilizar lavouras, produzir derivados alcoólicos ou extrair óleo de semente de uva, permanecem nos estabelecimentos processadores da uva, ocupando espaços ou, quando depositados de forma inadequada, causando degradação ambiental e contaminando cursos d'água (RIZZON *et al.* 1999).

A presente dissertação é apresentada no formato de artigos encaminhados para a revista Ciência Rural. O primeiro artigo relata a determinação *in vitro* da composição centesimal, digestibilidade e a atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva (*Vitis vinifera*). No segundo artigo são avaliados os efeitos da inclusão de semente de uva e de seu subproduto em dietas de frangos de corte, submetidos ou não a desafio bacteriano sobre: ganho de peso, ganho de peso médio diário, peso final, consumo de ração, conversão alimentar, índice de eficiência produtiva, coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, da matéria orgânica, proteína bruta, níveis plasmáticos de triglicerídeos, colesterol, proteína total, glicose e pH cecal.

### 3-ARTIGOS CIENTÍFICOS

#### 3.1-CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE SUBPRODUTOS DA UVA PARA UTILIZAÇÃO NA INDÚSTRIA AVÍCOLA E NA CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS

##### PHISICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF GRAPE BY-PRODUCT FOR USE IN POULTRY INDUSTRY AND THE FOOD CONSERVATION

Rui Rotava<sup>I</sup>, Irineo Zanella<sup>II</sup>, Leila Picolli da Silva<sup>II</sup> Melânia Palermo Manfron<sup>III</sup>, Carla Speroni Ceron<sup>III</sup> Sydney Hartz Alves<sup>IV</sup>

**RESUMO:** Com este trabalho objetivou-se determinar *in vitro* a composição centesimal, a atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva (*Vitis vinifera*) para seu aproveitamento como ingredientes alternativos na indústria avícola e na conservação de alimentos. O conteúdo de fibra bruta do bagaço é de 31,6% e de lignina das sementes foi de 61,2%. As sementes prensadas renderam 13,4% de óleo bruto, cuja composição de ácidos graxos tem 67,73% de ácido linolêico. Para serem estudados como promotores de crescimento para aves e conservantes na indústria de alimentos, compostos polares foram extraídos da semente de uva desengordurada em solução contendo acetona, água e ácido acético, resultando em 10,3% de rendimento de extrato de semente de uva desengordurada (ESUD). Este extrato, quando analisado, evidenciou a presença de pigmentos antocianícos e taninos condensados. Subprodutos de uva apresentam conteúdo de fibra que pode comprometer seu aproveitamento como ingrediente em dietas de aves de corte. O ESUD apresentou alta atividade antibacteriana *in vitro* contra cepas de *S. aureus* e *E. coli* e baixa atividade contra cepas de *Salmonella sp.* A atividade antioxidante teve inibição comparável ao ácido ascórbico. A atividade tanante foi considerada baixa para a semente de uva e alta para o ESUD.

**Palavras-chave:** atividade antimicrobiana, atividade antioxidante, subprodutos da uva, taninos.

<sup>I</sup>Dpto. de Zootecnia,(DZ), Centro de Ciências Rurais (CCR),Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.CEP:97105-900 E-mail:[rotava@mail.ufsm.br](mailto:rotava@mail.ufsm.br) Autor para correspondência

<sup>II</sup>DZ, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>III</sup>Dpto. Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde (CCS), UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>IV</sup>Dpto. Microbiologia e Parasitologia, CCS, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

**ABSTRACT:** The aim of this experiment was to determine *in vitro* the centesimal composition and antibacterial, antioxidant and tanning activity from grape by-products (*Vitis vinifera*), for its exploitation as alternative ingredients in the poultry industry and food conservation. The crude fiber content of the bagace is 31.6% and the lignin of the seeds is 61.2%. The pressed seeds had produced 13.4% of crude oil, whose fat acid composition has 67.73% of linoleic acid. To be studied as growth promoter for poultry and natural preservative in the food industry, polar compound had been extracted of the defatted grape seed (SUD) in a solution with acetone, water and acetic acid, in the 90: 9.5: 0.5 ratio respectively, resulting in a yield of 10.3% of defatted grape seed extract (ESUD). This extract, when analyzed, evidenced the presence of anthocyanic pigments and condensed tannins. The grapes by-products have crude fiber content can may decrease use as an ingredient poultry diets. ESUD has high antibacterial activity against strains of *S. aureus* and *E. coli*, but not against *Salmonella sp.* The antioxidant activities of the ESUD have an inhibition comparable to the ascorbic acid. The capacity to bind proteins was considered low for the seed and high for the ESUD.

**Key words:** antimicrobial activity, antioxidant activity, grape by-products, tannins.

### 3.1.1-Introdução

A indústria avícola brasileira enfrenta dificuldades para exportar carne de frango e derivados em função de restrições impostas por importadores, por causa da presença de

antibióticos nas dietas alimentares. Isto limita a utilização de promotores de crescimento tradicionais e estimula a pesquisa de alternativas para atender esta demanda. Cresce também o interesse na utilização de compostos naturais, para aumentar a vida útil de produtos destinados à alimentação humana, de cosméticos e de medicamentos.

Compostos fenólicos presentes na uva já foram estudados por BAYDAR *et al.* (2004), JAYAPRAKASHA *et al.* (2003) e RHODES *et al.* (2006) que determinaram *in vitro* sua atividade antibacteriana. Outros efeitos, como atividade inibidora sobre a lipase pancreática já foi estudada por MORENO *et al.* (2003), o efeito protetor epitelial provocado por radiação solar foi estudado por CARINI *et al.* (2000) e efeito hipocolesterolêmico em ratos por TEBIB *et al.* (1994).

O objetivo deste trabalho foi determinar *in vitro* a composição centesimal, a digestibilidade e atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva (*Vitis vinifera*), para avaliar seu possível aproveitamento em dietas na indústria avícola e na conservação de alimentos.

### 3.1.2-Material e métodos

Foram colhidas amostras de bagaço de uva ensilados, das cultivares (cv.) *Isabel* e *Bordô* e sementes de uva integrais (SUI) das cv. *Tanat* e *Cabernet sauvignon* tendo seu conteúdo de matéria seca (MS), de matéria orgânica (MO), de extrato etéreo (EE), de fibra bruta (FB) e de extrativos não nitrogenados (ENN) determinados de acordo com AOAC (1995). A proteína bruta (PB) foi determinada através da técnica modificada por KOZLOSKI *et al.* (2003). Para determinar fibra detergente neutro e ácida (FDN e FDA) e lignina foi utilizada a técnica de VAN SOEST *et al.* (1991). Para determinar a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica (DIVMS e DIVMO) foi utilizado o método de KOMAREK (1993) modificado por DESCHAMPS (1999).

O óleo da SUI foi extraído, a quente, em prensa mecânica. A composição de ácidos graxos do óleo foi determinada pelo método de HARTMAN *et al.* (1973). As sementes de uva desengorduradas (SUD) foram moídas e maceradas com solução extratora de acetona, água e ácido acético, na proporção 90:9,5:0,5, respectivamente, ao abrigo de luz solar por 15 dias,

com renovação de solvente aos sete dias, para extração de compostos fenólicos, pelo método adaptado de JAYAPRAKASHA *et al.* (2003).

Depois este ESUD foi analisado fitoquimicamente pelo método de MOREIRA (1979) e COSTA (1994). A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) do ESUD, como solução etanólica a 20 %, foi determinada para cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 e do gênero *Salmonella*, pelo método de microdiluição em caldo, de NCCLS (1997).

A atividade antioxidante do ESUD foi determinada pelo método fotocolorimétrico do 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH) de CHOI *et al.* (2002). Nas amostras de SUI, SUD e ESUD foram determinadas a atividade tanante, umidade, sólidos solúveis e os sólidos não-tanantes, pelo método de análise quantitativa de tanino (SLTC, 1996).

### 3.1.3-Resultados e discussão

Os valores de PB, EE e lignina do bagaço observados na tabela 1, são parecidos com os encontrados por LLOBERA *et al.* (2006), mas menores dos relatados por BARROSO *et al.* (2006) e BAUMGÄRTEL *et al.* (2006) para MM, PB e ENN. Já GARCIA *et al.* (2002) encontraram valores de EE e lignina inferiores e níveis de MM, PB, FDN, FDA superiores.

**Tabela 1-Composição de bagaço e da semente de uva (%MS)**

Bagaço										
MS	MM	PB	EE	FB	ENN	FDN	FDA	Lig	DIVMS	DIVMO
54,4	2,6	12,8	16,2	31,6	36,7	52,7	44,6	26,3	65,3	65,6
Semente										
89,1	2,5	10,3	15	nd	nd	73,7	68,8	61,2	nd	nd

MS = Matéria Seca; MM = Matéria Mineral; MO = Matéria Orgânica; PB = Proteína Bruta; EE = Extrato Etéreo; FB = Fibra Bruta; ENN = Extrativos Não Nitrogenados FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido; Lig = Lignina; DIVMS e DIVMO= Digestibilidade 'in vitro' da MS e MO.

A SUI prensada rendeu 13,4% de óleo, superior aos 10,2% observados por CAO & ITO (2003), mas adequado a sua afirmação de que rendimentos entre 10 e 20% de óleo são comumente observados, independente da variedade ou do método utilizado. A tabela 2 mostra que, quando analisado a composição de ácidos graxos do óleo demonstrou alto conteúdo de ácido linoléico (67,73 %), enquanto que correspondem ao 19,07 % ao ác. oléico, 8,02 % ao ác. palmítico e 4,19 % ao ác. esteárico. Outros componentes são o ác. linolênico, ác. araquídico e ác. aracdônico com 0,45%; 0,25% e 0,21%, respectivamente.

**Tabela 2-Composição de ácidos graxos de óleo de semente de uva (%)**

Ácido Palmítico	8,02
Ácido Esteárico	4,19
Ácido Oléico	19,07
Ácido Linoléico	67,73
Ácido Linolênico	0,45
Ácido Araquídico	0,25
Ácido Aracdônico	0,21

A quantidade de substâncias polares extraídas pelo solvente da SUD foi de 10,3 % de ESUD. Este rendimento foi superior ao encontrado por ARVANITTOYANNIS *et al.* (2006) ao utilizar o método colorimétrico de determinação Folin-Ciocalteu, (8,58 %). Também superior aos 6% obtidos por JAYAPRAKASHA *et al.* (2003) mas menor que os 15% de compostos fenólicos extraídos por BAYDAR *et al.* (2006).

A análise fitoquímica do ESUD indicou pH 5, coloração acastanhada e odor característico, além de heterosídeos flavônicos e antociânicos, taninos condensados e traços de taninos hidrolisáveis, ácidos voláteis, esteróides e/ou terpenos, fenóis com posição orto, meta e para, gomas e mucilagens e ácidos orgânicos.

A CIM do ESUD para 30 cepas de *E. coli* apresentou média geométrica (MG) de 393,6 µg/ml e para CBM a MG foi de 1039 µg/ml, como mostra a tabela 3. Para 15 cepas de *S. aureus*, as médias foram de 206 e 452 µg/ml, para CIM e CBM, respectivamente. Para 15 cepas de *Salmonella sp.* a CIM mostrou valores superiores a 2500 µg/ml, não sendo avaliada, para esta bactéria, a CBM. O ESUD apresentou valores da CIM inferiores aos observadas por JAYAPRAKASHA *et al.* (2003) para as mesmas bactérias.

BAYDAR *et al.* (2006) asseguram que 4 a 20 % de ESUD inibem o crescimento de bactérias GRAM positivas e negativas e concluíram que a maior concentração de compostos

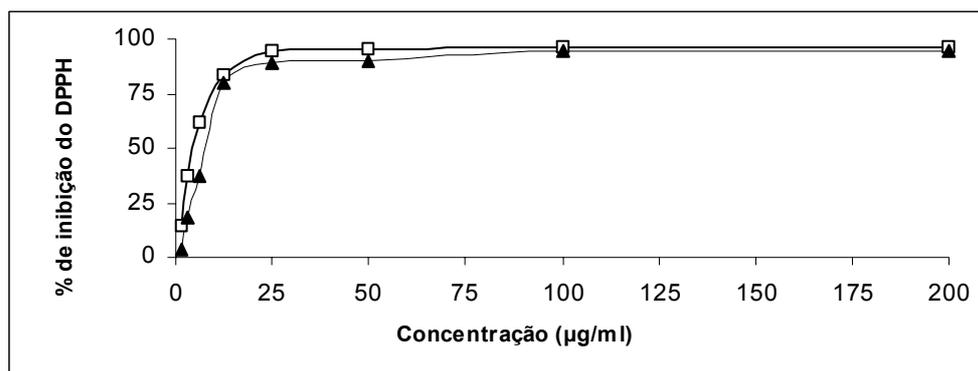
fenólicos da semente da uva pode ser utilizada para conservação de produtos na indústria de alimentos. Valores de CIM entre 50-500 µg/ml são consideradas de elevada atividade, sendo que de 600 a 1.500 µg/ml e acima de 1.500 µg/ml são consideradas de média e baixa atividade, respectivamente (SARTORATTO *et al.* 2004). Os resultados observados neste ensaio indicam alta atividade antibacteriana do ESUD contra *S. aureus* e *E. coli*, mas não contra *Salmonella sp.* Há que se considerar variações de suscetibilidade apresentada pelas cepas testadas.

**Tabela 3-Atividade antibacteriana do extrato de semente de uva desengordurada contra diferentes bactérias (% de cepas inibidas)**

Bactérias	Concentração (µg/ml)											
	78		156		312		625		1250		≥2500	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>S. aureus</i> <sup>1</sup>	0	0	60	0	40	46,6	0	53,4	0	0	0	0
<i>E.coli</i> <sup>2</sup>	13,3	0	23,3	0	0	3,2	43,3	41,9	20	29,1	0	25,8
<i>Salmonella sp</i> <sup>3</sup>	0	nd	0	nd	0	nd	0	nd	0	nd	100	nd

<sup>1</sup>Foram utilizadas 15 cepas de *S. aureus* <sup>2</sup>Foram utilizadas 30 cepas *E.coli* <sup>3</sup>Foram utilizadas 30 cepas *Salmonella*

A concentração inibitória do DPPH (IC<sub>50</sub>) foi de 5,52 e 8,08 µg/ml, respectivamente, para ácido ascórbico e ESUD. No gráfico 1 nota-se que este último apresentou percentual de inibição linear e crescente do DPPH que estabilizou em 94,26 % na concentração de 200 µg/ml que foi semelhante ao do ácido ascórbico, com 96,58 % de inibição e na mesma concentração. No entanto, valores de 25 µg/ml de ESUD apresentam mais de 90 % de inibição do radical livre DPPH. Compostos fenólicos, como flavonóides, triterpenos e taninos, são doadores de elétrons, portanto, excelentes substâncias antioxidantes naturais (GAO *et al.* 1999).



**Gráfico 1-Porcentagem de inibição do radical livre DPPH pelo extrato da semente de uva (▲) e do ácido ascórbico (□).**

Na tabela 4 nota-se que o total de substâncias com atividade tanante da SUI, SUD e ESUD foi de 2,4; 3,3 e 50,6 % e para substâncias não-tanantes de 16,1; 21 e 8,2 %, respectivamente. Esta capacidade é atribuída a compostos fenólicos (taninos condensados e hidrolisados) e corresponde somente aos compostos que tenham de três a sete unidades monoméricas condensadas. A quantidade de compostos insolúveis foi de 72,9; 69 e 35,8 % para SUI, SUD e ESUD, respectivamente.

**Tabela 4-Substâncias com atividade tanante, não-tanante, insolúveis, umidade e adstringência de subprodutos da uva**

	Subproduto de uva		
	ESUD	SUD	SUC
Tanante (%)	50,6	3,3	2,6
Não tanante (%)	8,2	21	16,5
Insolúvel (%)	35,8	69	72,5
Umidade (%)	5,4	8,7	8,3
Adstringência <sup>1</sup>	6,17	0,16	0,15

<sup>1</sup>obtida pelo quociente entre tanante e não-tanante

Esta fração é formada por fenóis muito condensados, acima de sete unidades e presentes na porção de fibra bruta. Para adstringência os valores foram de 0,15; 0,16 e 6,17, respectivamente, para SUI, SUD e ESUD, obtida pelo quociente entre o valor de substâncias

tanantes e não tanantes.

As diferenças observadas das variáveis até agora analisadas podem ser decorrentes de metodologias de coleta de amostras, efeito de sazonalidade, diferentes cultivares e/ou estágio de maturação, localizações geográficas ou procedimentos de armazenagem (ensilagem).

### 3.1.4-Conclusão

Subprodutos de uva apresentam conteúdo de fibra que pode comprometer seu aproveitamento como ingrediente em dietas de aves de corte. O extrato de semente de uva desengordurado apresentou alta atividade antibacteriana *in vitro* contra cepas de *S. aureus* e *E. coli*, baixa atividade contra cepas de *Salmonella sp.* e atividade antioxidante comparável ao ácido ascórbico, fato que indica seu possível aproveitamento em dietas de frango de corte e na indústria de alimentos. A atividade tanante foi considerada baixa para a semente de uva e alta para o extrato de semente de uva desengordurado.

### 3.1.5- Referências bibliográficas

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of International**. Arlington, Virginia, 1995 1-2 v. 1094 p.

ARVANITOYANNIS, I. S., *et al.* Potential uses and applications of treated wine waste. **International Journal of Food Science and Technology**, UK, v.41, p.475–487, 2006.

BARROSO, D. D., *et al.* Desempenho de ovinos terminados em confinamento com resíduo desidratado de vitivinícolas associado a diferentes fontes energéticas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1553-1557, 2006.

BAUMGÄRTEL, T., *et al.* A note on digestibility and energy value for sheep of different grape pomace. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v.67, n.2-3, p.302-306, 2006.

BAYDAR, N. G., *et al.* Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera L.*) extracts. **Food Control**, USA, v.15, n.5, p.335-339, 2004.

\_\_\_\_\_. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape. **International Journal of Food Science and Technology**, UK, v.41, p.799–804, 2006.

CAO, X., *et al.* Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1021, n.1, p.117-124, 2003.

CARINI, M., *et al.* UVB-induced hemolysis of rat erythrocytes: Protective effect of procyanidins from grape seeds. **Life Sciences**, Amsterdam, v.67, n.15, p.1799-1814, 2000.

CHOI, C. W., *et al.* Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Science**, Amsterdam, v.163, p.1161-1168, 2002.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994 v. 135 p.

DESCHAMPS, F. C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum Schumach*). **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.28, n.6, p.1358-1369, 1999.

GAO, Z., *et al.* Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1472, n.3, p.643-650, 1999.

GARCIA, J., *et al.* Effect of inclusion of defatted grape seed meal in the diet on digestion and performance of growing rabbits. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.80, p.162–170, 2002.

HARTMAN, L., *et al.* Rapid preparation of fatty acid methylesters from lipids. **Laboratory Practice**, London, v.22, n.8, p.475-476, 1973.

JAYAPRAKASHA, G. K., *et al.* Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Research International**, Canadá, v.36, p.117-122, 2003.

KOMAREK, A. R. A filter bag procedure for improved efficiency of fiber analysis. **Journal of Dairy Science**, Palo Alto, USA, v.76, p.250 (suppl. 1), 1993.

KOZLOSKI, G. V., *et al.* Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mott) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.104, p.29-40, 2003.

LLOBERA, A., *et al.* Dietary fiber content and antioxidant activity of *Manto Negro* red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. **Food Chemistry**, UK, v.101, n.3, p. 659-666, 2006.

MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Tribuna Farmacêutica**, Curitiba, v.47, n.1, p.1-19, 1979.

MORENO, D. A., *et al.* Inhibitory Effects of Grape Seed Extract on Lipases. **Nutrition**, USA, v.19, n.10, p.876-879, 2003.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 3 ed. Approved standard M7-A4, PA. 1997.

RHODES, P. L., *et al.* Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety *Ribier*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.107, n.3, p.281-286, 2006.

SARTORATTO, A., *et al.* Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.35, p.275-280, 2004.

SLTC. Society of Leather Technologists and Chemist. **Official Methods of Analysis**. New York, 1996, 607 p.

TEBIB, K., *et al.* Polymeric grape seed tannins prevent plasma cholesterol changes in high-cholesterol-fed rats. **Food Chemistry**, UK, v.49, n.4, p. 403-406, 1994.

VAN SOEST, P. J., *et al.* Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharide in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Ithaca, USA, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

**Agradecimentos:**

Os autores agradecem a Golden Sucos Ltda, Casa Valduga Ltda, Tanac S.A., Laboratório de Farmacognosia, LAPEMI, NIDAL, LNA da UFSM e a seus aos funcionários, professores, técnicos, monitores e bolsistas que colaboraram para a execução deste trabalho.

### 3.2- UTILIZAÇÃO DE SUBPRODUTOS DA UVA EM DIETAS DE FRANGO DE CORTE

#### USE OF GRAPE BYPRODUCTS FOR POULTRY DIETS

Irineo Zanella<sup>I</sup>, Rui Rotava<sup>II</sup>, Edílson Gonçalves Campos<sup>II</sup>, Aline Pain<sup>II</sup>, Ana Kátia Karkow<sup>II</sup>

Leila Picolli da Silva<sup>II</sup>, Ana Paula Dullius<sup>II</sup>, Melânia Palermo Manfron<sup>III</sup>, Sydney Hartz

Alves<sup>IV</sup>, Cristiane Casagrande Denardin<sup>V</sup>

**RESUMO** – Foi realizado um experimento para avaliar os efeitos da inclusão de subprodutos da uva (*Vitis vinifera*) como promotor de crescimento em dietas de frango de corte. As variáveis analisadas foram ganho de peso, consumo de ração, ganho de peso médio, peso final, conversão alimentar, índice de eficiência produtiva, digestibilidade aparente da matéria seca, da matéria orgânica, da proteína bruta, parâmetros bioquímicos sanguíneos e pH cecal. Foram utilizados 600 pintos de corte machos Ross, de 1 a 21 dias de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos, inoculados ou não com cepas de *Escherichia coli*, constituindo um fatorial 6x2 com cinco repetições de 10 aves cada uma. Foi utilizada uma dieta isonutritiva composta por ração inicial basal, com subproduto de uva ou antibiótico, de acordo com os seguintes tratamentos: T1-controle negativo; T2-0,05% de flavomicina e sulfato de colistina; T3-0,04% extrato de semente de uva desengordurada (ESUD); T4-0,1% de semente de uva integral (SUI); T5-0,47% de SUI e T6-2,35% de SUI. A inclusão de subprodutos da uva não influenciou as variáveis zootécnicas e coeficientes de digestibilidade, nem colesterol, mas alterou o metabolismo e diminuiu as médias dos triglicerídeos plasmáticos. A inoculação piorou o ganho de peso e o peso final, além de diminuir os níveis plasmáticos de proteínas totais, aumentar triglicerídeos e glicose, especialmente quando associada ao ESUD melhorou o coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica. Os resultados contraditórios indicam a necessidade de novos experimentos.

Palavra chave: desempenho zootécnico, digestibilidade aparente, frango de corte, parâmetros bioquímicos sanguíneos, pH cecal, subprodutos de uva

<sup>I</sup>Dpto. de Zootecnia,(DZ), Centro de Ciências Rurais (CCR),Universidade Federal de Santa Maria (UFSM),Santa Maria, RS, Brasil. CEP:97105-900 E-mail: [izanella@smail.ufsm.br](mailto:izanella@smail.ufsm.br)  
Autor para correspondência

<sup>II</sup>DZ, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>III</sup>Dpto. Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde (CCS), UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>IV</sup>Dpto. Microbiologia e Parasitologia, CCS, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>V</sup>Dpto. de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

**ABSTRACT** - An experiment was conducted to determine the effects of the inclusion of the by-products of grape (*Vitis vinifera*) as growth promoters in diet of chicken on weight gain, feed intake, gain in average weight, body weight, feed conversion, index of productive efficiency, apparent digestibility of dry matter, organic matter, crude protein, blood biochemical parameters and cecal pH. Six hundred Ross males chicks were raised from 1 to 21 days of age, were allotted in a completely randomized design, with six treatments, inoculated or not with strains of *Escherichia coli* and in 6x2 factorial of five replications with 10 birds. Each birds received an isonutritive basal diet added of grape by-products or antibiotics according to the following treatments: T1-negative controls; T2-positive control-0,05% of flavomycin and colistin sulphate; T3-0,04% defatted grape seed extract (ESUD); T4-0,1% of grape seed (SUI); T5-0,47% of SUI and T6 - 2,35% of SUI. The inclusion of grape by-products did not influence the rates growth parameters, apparent digestibilidade or cholesterol levels but decrease levels of blood triglycerides. The inoculation decreased weight gain and body weight decreased the levels of blood total protein, and increased triglycerides and glucose and when associated with the ESUD, improved the apparent digestibility of organic matter. The contradictory results indicate the need for further experiments.

Keyword: apparent digestibility, blood biochemical parameters, cecal pH, grape byproducts, growth performance, poultry.

### 3.2.1-Introdução

A exportação da carne de frango brasileira vem sofrendo restrições, por parte de países importadores, em função da presença de antibióticos nas dietas. Estas restrições têm limitado a utilização de promotores de crescimento tradicionalmente utilizados e estimulado a pesquisa para atender esta demanda e manter a viabilidade da cadeia produtiva.

Dentre as alternativas pesquisadas, compostos fenólicos presentes nas sementes de uva (*Vitis vinifera*) já tiveram sua atividade antibacteriana *in vitro* comprovada por BAYDAR *et al.* (2004), JAYAPRAKASHA *et al.* (2003), e RHODES *et al.* (2006).

A utilização de subprodutos como forma de aumentar a rentabilidade dos agricultores é preconizada por técnicos e empresas de assistência técnica e extensão rural que priorizam o aumento da sustentabilidade econômico-social e o respeito ao meio ambiente (EMATER/RS, 2007). Segundo TORRES *et al.* (2002) um total de 13 % de subprodutos gerados pela indústria vinícola são descartados. Considerando que, no ano de 2006, a produção de uvas foi superior a 423 mil toneladas de uva, quase 55 mil toneladas são de subprodutos produzidos (UVIBRA, 2006).

A dosagem de parâmetros bioquímicos sanguíneos tem sido utilizada frequentemente por autores na tentativa de explicar melhor a relação entre estes componentes e o aparecimento de doenças metabólicas, além de servir como parâmetro diretamente envolvido na performance produtiva das aves.

O objetivo deste experimento foi avaliar os efeitos da inclusão de subprodutos da uva em dietas de frango de corte, submetidos ou não a desafio bacteriano. As variáveis analisadas foram consumo de ração (CR), peso final (PF), ganho de peso médio (GPM), ganho de peso médio diário (GPMD), conversão alimentar (CA), índice de eficiência produtiva (IEP), coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), da matéria orgânica (CDMO), proteína bruta (CDPB), níveis plasmáticos de triglicerídeos (TGR), colesterol (COL), proteína total (PRT) e glicose (GLP) e pH cecal.

### 3.2.2-Material e métodos

O experimento foi conduzido em galpão do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, CCS, da Universidade Federal de Santa Maria, RS. No dia 12 de março de 2007 foram alojados 600 pintos de corte machos da linhagem Ross, com um dia de vida, vacinados contra Marek, num galpão com temperatura adequada para cada fase, regime de luz contínua, ração e água *ad libitum*.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 6x2 (testemunha positivo, negativo e quatro subprodutos de uva x com ou sem inoculação) e cinco repetições de 10 aves por unidade experimental. As aves foram distribuídas segundo o peso médio do lote, (39 gr), com um desvio padrão máximo de 2 % e criadas em três baterias metálicas de cinco andares, quatro compartimentos de 0,5 m<sup>2</sup> por andar (20 aves/m<sup>2</sup>), até 21 dias de idade, constituídas de piso telado, providas de comedouro e bebedouro tipo calha.

Amostras de semente de uva integral (SUI), das cultivares *Cabernet sauvignon* e *Tanat*, foram obtidas para isolar e quantificar os compostos fenólicos. Uma vez extraído o óleo por prensagem a quente, as sementes de uvas desengorduradas (SUD) foram submetidas à solução de acetona, água e ácido acético, segundo técnica adaptada de JAYAPRAKASHA *et al.* (2003). O extrato de semente de uva desengordurado (ESUD) obtido apresentou rendimento de 10%. Depois a atividade antibacteriana *in vitro* do ESUD foi determinada para cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e do gênero *Salmonella*, com base na técnica NCCLS (1997). A média geométrica da concentração inibitória mínima (CIM) de 400 ppm, observada contra cepas de *E. coli*, mais a concentração média de ESUD presente nas amostras de semente de uva foram utilizadas como referência para definir o nível de inclusão da substância farmacologicamente ativa nos tratamentos.

Amostras de SUI das mesmas cultivares foram previamente peneiradas, secas, moídas e imediatamente utilizadas nas rações. Na Tabela 5 são apresentados os dados da dieta basal (DB) formulada para o período de 1 a 21 de idade, para satisfazer as exigências nutricionais dos frangos de corte, adaptado de ROSTAGNO (2000), reservando 2,35% nas dietas para compor os diferentes tratamentos. Foram testados os controles negativo, positivo, três níveis crescentes de SUI e o ESUD. Assim o controle negativo foi constituído pela inclusão da DB mais 2,35 % de caolin (T1). O controle positivo teve DB mais 0,05% de flavomicina e sulfato

de colistina e 2,30% de caolin (T2), DB mais a inclusão de 0,04% de ESUD e 2,31% de caolin,(T3) e o T4, T5 e T6 foram obtidos pela inclusão da DB mais 0,1; 0,47 e 2,35 %, de SUI e 2,25, 1,88 e zero de caolin, respectivamente.

**Tabela 5-Ingredientes, composição centesimal e valor calculado das dietas de aves de 1 a 21 dias**

Ingredientes %	Tratamentos <sup>1</sup>					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Milho	48,12	48,12	48,12	48,12	48,12	48,12
Farelo de soja	39,49	39,49	39,49	39,49	39,49	39,49
Óleo vegetal	5,87	5,87	5,87	5,87	5,87	5,87
Fosfato bicálcico	1,98	1,98	1,98	1,98	1,98	1,98
Calcário	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
NaCl	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-metionina	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
L-treonina	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
L-lisina	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
Premix vitamínico/mineral <sup>2</sup>	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Inerte (caolin)	2,35	2,30	2,31	2,25	1,88	zero
Flavomicina e Sulfato de Colistina	zero	0,05	zero	zero	zero	zero
Semente de uva integral	zero	zero	zero	0,10	0,47	2,35
ESUD	zero	zero	0,04	zero	zero	zero
Total	100	100	100	100	100	100
	Valor calculado <sup>3</sup>					
Matéria Seca %	87,5	87,5	87,5	87,5	87,5	87,5
Proteína Bruta %	22	22	22	22	22	22
Energia Metabolizável Kcal/kg	3050	3050	3050	3050	3050	3050
Cálcio %	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98
Fósforo %	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
Lisina total %	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28
Metionina total %	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Treonina %	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Taninos <sup>3</sup> %	zero	zero	0,02	0,002	0,011	0,056

<sup>1</sup>T1- controle negativo DB mais 2,35 % de caolin .T2 DB mais 0,05% de flavomicina e sulfato de colistina e 2,30% de caolin. T3- DB mais 0,04% de ESUD e 2,31% de caolin. T4, T5 e T6 DB mais 0,1; 0,47 e 2,35 %, de semente de uva e 2,25, 1,88 e zero de caolin, respectivamente.

<sup>2</sup>Pré-mix Vitagri cada kg contem : vit. A (990 UI/g), vit. D3 (189 UI/g), vit. E (1980 mg/kg), vit. K3 (225 mg/kg), vit B1 (202,5 mg/kg), vit. B2( 720 mg/kg), vit. B6(450 mg/kg), vit. B12(1620 Mcg/kg), Biotina(16200 Mcg/kg), Ac. Pantotênico (1620 Mg/kg), Ac. Fólico(45000 Mcg/kg), Ác. Nicotínico(3150 Mg/kg), Colina(52500 Mg/kg), Mn( 5400mg/kg), Cu(630mg/kg), Fé(4050 mg/kg), Zn(4500mg/kg), I(54 mg/kg), Se(22,5mg/kg), nicarbazina 97%, narasina 10%, antioxidante Rx.

<sup>3</sup>Valores estimados segundo tabela nutricional de Rostagno (2000)

<sup>3</sup> Valores determinado segundo metodologia descrita por SLTC (1996)

No 5º dia de idade foi feita a inoculação com 0,2 ml de caldo bacteriano, via endoesofágica, em metade das aves. A outra metade recebeu o mesmo volume contendo água. O inóculo bacteriano continha em média  $10^6$  ufc/ml de oito cepas diferentes de *E. coli*. Esta enterobactéria gram-negativa é habitante normal da flora gastrintestinal de aves e pode causar doenças graves. As cepas patogênicas excretam fatores de virulência como enterotoxinas, sideroforos, toxinas shigalike, fator citotóxico e hemolisinas (HIRSH *et al.* 1999). A cepa enteropatogênica é a mais importante para aves (GONÇALVES, 2005). As aves desafiadas foram separadas do grupo não desafiado por barreira física de película de plástico preta, mais procedimentos de manejo padronizados e fluxo unidirecional de entrada e saída no sentido não contaminado para contaminado.

As aves foram pesadas no início do experimento e a cada sete dias. No cálculo do consumo de ração, considerou-se a ração fornecida, menos as sobras nos comedouros, ocorridos no período experimental para determinação de consumo de ração (CR/g), peso final (PF/g), ganho de peso médio (GPM/g/d), ganho de peso médio diário (GPMD/g/d) e, posteriormente, calculou-se a conversão alimentar (CA) e o índice de eficiência produtiva (IEP). O número e a idade das aves mortas foram anotados.

Para o ensaio de digestibilidade aparente foi utilizado o método tradicional de coleta total de excretas, por três dias, de acordo com SILVA (1981), com as aves vivas na idade de 19 a 21 dias de idade. As excretas foram recolhidas duas vezes ao dia, pela manhã e tarde, pesadas e uma amostra representativa de cada unidade experimental separada e embalada em sacos plásticos, devidamente identificados e congelada em freezer vertical sob temperatura de 15° C negativos. Para identificar as excretas do ensaio de digestibilidade foi adicionado 1% de óxido férrico nas rações no primeiro e no último dia de coleta. Desta forma, na primeira coleta, as excretas não marcadas foram desprezadas e na última coleta do período experimental, as excretas marcadas também foram descartadas. No final do ensaio foi determinada a quantidade de ração consumida, bem como a quantidade total de excretas. Após descongelamento a temperatura ambiente e homogeneização das amostras determinaram-se a matéria seca total, a matéria orgânica e a matéria mineral, utilizando-se metodologia descrita por AOAC (1995). Para determinar proteína bruta, utilizou-se o método de Kjeldahl de acordo com técnica modificada por KOZLOSKI *et al.* (2003). O caolin adicionado às dietas foi descontado de forma a corrigir o volume de excretas, pelo fato de ser indigestível. Com base nos resultados laboratoriais foram calculados os coeficientes de

digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS/%), da matéria orgânica (CDMO/%) e proteína bruta (CDPB/%) de acordo com fórmula de SCHNEIDER *et al.* (1975).

No final do período experimental, quatro aves por tratamento (48 aves no total) foram selecionadas de forma que seu peso fosse próximo da média da unidade experimental observada. Depois, por sorteio, foram insensibilizadas por deslocamento cervical e seccionados os grandes vasos do pescoço. Neste instante houve coleta de sangue em tubos de ensaio com anticoagulante, os quais foram acondicionados em caixa de isopor e mantidos sob refrigeração para posterior análise por kits reagentes de determinação enzimática, de níveis plasmáticos de triglicerídeos (TGR/mg/dl), colesterol total (COL/mg/dl), proteína total (PRTg/dl) e glicose (GLP/mg/dl) e leitura em espectrofotômetro. A seguir as aves foram evisceradas e o conteúdo cecal exposto para determinação do pH, com pHmetro digital.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, usando o proc GLM do pacote estatístico SAS, (1993), incluindo no modelo o efeito dos tratamentos, o efeito da inoculação e a interação entre os tratamentos e a inoculação. As diferenças entre as médias foram avaliadas pelo teste de Tukey a de 5% de probabilidade.

O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + I_j + (PI)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

onde:

$Y_{ijk}$  = Observações das variáveis dependentes correspondentes à repetição da independente  $j$  sob o promotor de ordem  $i$ .

$\mu$  = Média geral das observações.

$P_i$  = Efeito do  $i$ -ésimo tipo de promotores de crescimento. (1, 2, 3, 4, 5,6)

$I_j$  = Efeito do  $j$ -ésimo nível da inoculação. (0,1)

$(PI)_{ij}$  = Efeito da interação entre os promotores e a inoculação

$\varepsilon_{ijk}$  = Erro experimental, associado à observação do tipo de promotor  $i$  sob o nível de inoculação  $j$ , NID  $(0, \sigma)^2$

### 3.2.3-Resultados e discussão

Poucos são os trabalhos que testaram subprodutos de uva em dietas de aves, fato que dificulta a comparação nas mesmas condições com outros autores. Alguns autores testaram sementes de leguminosas e outros grãos, com ou sem taninos e outros fatores antinutricionais. Outros autores testaram AT que são taninos hidrolisáveis, fato que sugere cautela ao comparar os resultados. Os taninos presentes na SUI e ESUD são em sua maioria condensados, sendo que 60 a 70% dos compostos fenólicos estão na forma de monômeros de flavan-3-ols (catequina, epicatequina e epigalocatequina) e ésteres com ácido gálico, ácidos fenólicos (ácido gálico), dímeros procianidina B1, B2 e outros dímeros (B3, B4, B5, B6, B7, B8), trímeros (C1), tetrâmeros e polímeros (HATZIDIMITRIOU *et al.* 2007). Alguns autores, como SILVA *et al.* (2001) e TEBIB *et al.* (1996), utilizaram ratos em seus trabalhos. A mortalidade observada no período foi de 2,5% não apresentando diferença estatística entre os tratamentos, nem para a inoculação.

Não houve efeito para tratamento nem para a interação tratamento x inoculação ( $P \geq 0,05$ ), em nenhuma variável analisada, como demonstrado na tabela 6. Os níveis mais altos de inclusão de SUI (0,056% de taninos) não interferiram no desempenho zootécnico. Estes resultados estão de acordo com QIYU *et al.* (2003) que testaram níveis crescentes de sorgo na dieta de frangos e concluíram que níveis de até 0,64% de tanino não provocam perdas significativas no GP ou em qualquer outra variável testada, embora admitam que níveis maiores de inclusão deprimam desempenho. Em outro trabalho, os mesmos autores utilizaram AT e observaram que 1,5 % de taninos eram suficientes para reduzir significativamente a atividade de proteinases totais, tripsina e  $\alpha$ -amilase de marrecos de Pequin. Mas estes resultados foram diferentes dos obtidos por TEBIB *et al.* (1996) que testaram semente de uva contendo 0,0071% de taninos e concluíram que estes deprimem significativamente o GP de ratos. Os resultados também diferem de NYACHOTI *et al.* (1996) que verificaram que o sorgo de alto tanino aumentou o CR de aves e concluíram que seria devido a um mecanismo compensatório, já que a energia metabolizável aparente destas dietas apresentava níveis significativamente inferiores. Resultados diferentes também de MARZO *et al.* (2002) que testaram AT em machos Leghorn até 15 dias de idade e observaram diminuição de CR e aumento do peso de fígado para o grupo controle.

**Tabela 6-Efeito dos tratamentos, da inoculação e probabilidade sobre o consumo de ração (CR/g), peso final (PF/g), de ganho de peso médio (GPM/g), conversão alimentar (CA), ganho de peso médio diário por ave (GPMD/g/d) e índice de eficiência produtiva (IEP) de 1 a 21 dias de idade**

Tratamento	CR	PF	GPM	CA	GPMD	IEP
Cont. negativo	1142	862	823	1,42	39	282
Cont. positivo	1115	879	840	1,33	40	316
DB+0,04% ESUD	1127	863	824	1,38	39	293
DB+0,1% SUI	1141	839	800	1,45	38	270
DB+0,47% SUI	1129	862	822	1,38	39	286
DB+2,35% SUI	1108	831	792	1,41	38	276
Efeito da inoculação						
Não inoculado	1132	867 <sup>a</sup>	828 <sup>a</sup>	1,37	39,4 <sup>a</sup>	294
Inoculado	1112	845 <sup>b</sup>	806 <sup>b</sup>	1,41	38,3 <sup>b</sup>	280
Probabilidade						
Tratamento	0,401	0,117	0,116	0,155	0,116	0,081
Inoculação	0,378	0,042	0,042	0,136	0,042	0,135
Tratamento x inoc.	0,104	0,882	0,967	0,760	0,967	0,802
C. V. (%)	3,7	4,81	5,03	6,98	5,03	13,39

<sup>ab</sup> Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey

As médias de CA dos tratamentos, na tabela 6, não diferiram na interação tratamento x inoculação, nem no efeito da inoculação. Este resultados são parecidos com QIYU *et al.* (2003) que, ao testarem sorgo com 0,64 % de taninos em frangos, concluíram que estes níveis não pioram a conversão alimentar. O contrário de BATISTA, (2005), que avaliou dietas para frango contendo 0,03% de flavonóides na dieta e observou que estes tratamentos melhoraram a CA. E também diferentes de GARCIA *et al.*(2005) que utilizaram sorgo com 0,182% de taninos em dietas de frango de corte e estes pioraram a CA, na fase de 1 a 21 dias.

Para MANSOORI (2007) os taninos reduzem a absorção intestinal de aminoácidos como prolina, metionina, alanina e fenilalanina e sugere ser devido a distúrbios na bomba de Na-K dos aminoácidos, diretamente, ou com a inibição de enzima ATPase de Na-K, indiretamente. Para JANSMAN (1993), os taninos inibem enzimas como tripsina, quimiotripsina,  $\alpha$ -amilase, dipeptidase,  $\alpha$ -glucosidase, sacarase vitaminas como A, B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> e ferro. A inibição de lipases também ocorre *in vitro*. Os efeitos deletérios dos taninos

parecem atuar em fases mais jovens. NYACHOTI *et al.* (1996) testaram sorgo com alto tanino em dietas de frango e observaram que, apenas aos nove dias de idade, os frangos apresentaram um aumento significativo do CR nos tratamentos que incluíam taninos, no entanto, sem alterações no peso do pâncreas e intestino delgado. Acreditam que enzimas como tripsina e  $\alpha$ -amilase complexadas por taninos a nível intestinal provocariam hipertrofia pancreática e sustentam que resultados contraditórios poderiam ser explicados pela origem de diferentes taninos.

Houve efeito da inoculação ( $P \leq 0,05$ ) para PF, GPM e GPMD, na tabela 6, onde o grupo inoculado apresentou médias menores. Esses resultados foram parecidos com BORATTO *et al.* (2004) cuja inoculação da *E. coli* piorou o desempenho das aves, aumentou o peso relativo do coração, do fígado e dos intestinos no período de 1 a 21 dias. Os autores descrevem como discretas as lesões no TGI em inoculações exclusivas com *E. coli*, mas elas impactaram de forma expressiva sobre desempenho zootécnico. O desafio bacteriano aumenta a demanda de nutrientes metabólicos e compromete, de forma desconhecida, a síntese protéica a partir de aminoácidos, o que justificaria a piora das médias destas variáveis (MATEOS *et al.* 2002).

Não houve mortalidade imediata provocada pela inoculação, ao contrário de ASSIS *et al.* (2001) que inocularam cepas de *E. coli* em pintos com um dia de idade e constataram mortalidade em torno de 10%. Sem considerar outras vias de inoculação testadas que apresentaram valores ainda maiores de mortalidade.

Não houve efeito de tratamento nem da interação tratamento x inoculação para CDMS, CDMO e CDPB, como mostra a tabela 7. Estes resultados contrariam TEBIB *et al.* (1996) que sugerem que os complexos taninos-nutrientes resultantes induzem à menor digestibilidade da dieta, diminuem a atividade enzimática bacteriana cecal e colaboram com o incremento da excreção fecal de nitrogênio e menor desempenho.

A inoculação causou efeito ( $P \leq 0,05$ ) sobre o CDMO, onde as médias do grupo NI são menores que o do I, como pode ser visto na tabela 7. A cinética de digestão pode justificar os níveis mais altos de CDMO do grupo I. A diminuição do consumo de ração voluntário em ruminantes diminui a taxa de passagem da digesta pelo TGI e aumenta sua digestibilidade MERTENS *et al.* (1982). Embora a diminuição do CR seja apenas sugerida pelas médias significativamente inferiores do PF e GPMD, e mesmo considerando aqui se tratar de aves, é

possível relacionar menor taxa de consumo, menor volume de conteúdo gastrointestinal e, conseqüentemente, maiores níveis de digestibilidade da matéria orgânica.

**Tabela 7-Efeito dos tratamentos, da inoculação e inoculação e probabilidade sobre o sobre coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS ap / %), da matéria orgânica (CDMO ap / %) e da proteína bruta (CDPB ap / %)**

Tratamento	CDMS ap	CDMO ap	CDPB ap
Cont. negativo	74,79	74,92	70,14
Cont. positivo	74,05	74,33	68,06
DB+0,04% ESUD	73,53	73,60	69,14
DB+0,1% SUI	74,96	74,74	68,50
DB+0,47% SUI	74,57	74,32	68,53
DB+2,35% SUI	74,48	73,37	67,61
Efeito da inoculação			
Não inoculado	74,04	73,07 <sup>b</sup>	68,32
Inoculado	74,76	75,36 <sup>a</sup>	69,01
Probabilidade			
Tratamento	0,604	0,650	0,661
Inoculação	0,159	0,005	0,445
Tratamento x inoculação	0,131	0,266	0,027
C. V. (%)	2,62	3,21	5,06

<sup>ab</sup> Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey

Houve efeito na interação tratamento e inoculação ( $P \leq 0,05$ ) para o CDPB não havendo, entretanto, diferenças entre as médias. Estes resultados se parecem com NYACHOTI *et al.* (1996) que, ao testarem sorgo com alto tanino em aves, não observaram diferenças significativas da percentagem de retenção de nitrogênio entre os tratamentos. No entanto, estes resultados contrariam a expectativa, na medida em que taninos complexam proteínas, tornando-as insolúveis, que assim são excretadas, estimulam a secreção de proteínas intestinais endógenas, erodindo a mucosa intestinal, e afetando negativamente a utilização de nitrogênio. Também são diferentes de MARZO *et al.* (2002) e QIYU *et al.* (2003) que, ao testarem ácido tânico e sorgo em aves Leghorn, observaram menor coeficiente de digestibilidade da proteína e conseqüente piora no desempenho produtivo.

Houve efeito ( $P \leq 0,05$ ) de tratamento para TGR, onde o T6 apresentou médias mais

baixas que o T3 (tabela 8). Este tratamento, cujo aditivo é o ESUD, tem alto conteúdo de taninos condensados sendo que 50,6% de seu conteúdo tem atividade tanante, que se conjuga com proteína, justamente o que corresponde a sua fração fenólica.

**Tabela 8-Efeito dos tratamentos, da inoculação e inoculação e probabilidade sobre triglicerídeos (mg/dl), colesterol (mg/dl), proteínas totais (g/dl), glicose plasmática (mg/dl) e pH cecal aos 21 dias:**

Tratamento	Triglicerídeos	Colesterol	Proteínas totais	Glicose	pH cecal
Efeito dos tratamentos					
Cont. negativo	93,30 <sup>ab</sup>	125,86	2,87	223,21	5,55
Cont. positivo	81,10 <sup>ab</sup>	109,82	2,90	213,43	5,52
DB+0,04% ESUD	101,54 <sup>a</sup>	126,76	2,83	229,16	5,69
DB+0,1% SUI	94,73 <sup>ab</sup>	114,05	2,70	221,55	6,00
DB+0,47% SUI	97,46 <sup>ab</sup>	124,86	2,77	226,95	5,52
DB+2,35% SUI	67,58 <sup>b</sup>	132,07	2,96	220,51	5,64
Efeito da inoculação					
Sem inoculação	83,59 <sup>b</sup>	128,41	3,06 <sup>a</sup>	214,09 <sup>b</sup>	5,7
Com inoculação	94,98 <sup>a</sup>	116,07	2,61 <sup>b</sup>	230,85 <sup>a</sup>	5,6
Probabilidades					
Tratamento	0,011	0,963	0,922	0,292	0,103
Inoculação	0,049	0,435	0,003	0,001	0,36
Trat. x inoculação	0,007	0,705	0,491	0,002	0,002
C.V. (%)	24,52	21,53	20	6,95	6,52

<sup>ab</sup> Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey

Ao comparar as médias, na tabela 9, verifica-se que no grupo inoculado, as médias de TGR mais baixas são exatamente das aves que consumiram a maior inclusão de SUI (T6), quando comparada com o T5 e T4. Na mesma tabela, observa-se que, as demais médias não diferem, inclusive dentro do grupo não inoculado. Estes resultados são parecidos com SILVA *et al.* (2001) que ao testarem flavonóides (naringina e rutina) em ratos observaram diminuição dos níveis de TGR e sugerem que, o fato, se deve ao aumento da atividade da lipase lipoprotéica provocada pelos flavonóides, levando a uma maior mobilização (hidrólise) dos TGR para o fígado, tecido muscular e tecido adiposo. ARIJA *et al.* (2006) testaram feijão (*Phaseolus vulgaris*) e observaram diminuição do TGR e GLP. No entanto, quando estas

dietas foram submetidas ao processo de extrusão dos feijões, o TGR e GLP aumentaram seu nível plasmático. Mas diferem de DIAS (2004) que testou AT e sorgo e observou que altas concentrações de ambos aumentam o TGR e que o primeiro aumentou os níveis de TGR no LDL e de TGR no VLDL.

É certo que taninos nas dietas podem impactar sobre atividade enzimática intestinal de aves. Autores como QIYU *et al.* (2003) utilizaram AT em dietas de marrecos de Pequim e observaram que 1,5 % eram suficientes para reduzir significativamente a atividade de proteinases totais, tripsina e  $\alpha$ -amilase. Além de provocar intensa degradação enzimática de aminoácidos hepáticos e o aumento da atividade proteolítica hepática e resultam também na diminuição de ganho de peso devido alterações no catabolismo protéico e nos valores nutritivos da dieta.

**Tabela 9-Comparação de médias de triglicerídeos entre lote não inoculado (NI) e inoculado (I) aos 21 dias de idade**

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
NI	81.48 <sup>ab</sup>	90.52 <sup>ab</sup>	106.70 <sup>ab</sup>	72.61 <sup>ab</sup>	79.91 <sup>ab</sup>	70.31 <sup>ab</sup>
I	105.12 <sup>ab</sup>	71.67 <sup>ab</sup>	96.38 <sup>ab</sup>	116.86 <sup>a</sup>	115.02 <sup>a</sup>	64.84 <sup>b</sup>

T1- controle negativo DB mais 2,35 % de caolin .T2 DB mais 0,05% de flavomicina e sulfato de colistina e 2,30% de caolin. T3- DB mais 0,04% de ESUD e 2,31% de caolin. T4, T5 e T6 DB mais 0,1; 0,47 e 2,35 %, de semente de uva e 2,25, 1,88 e zero de caolin, respectivamente.

<sup>ab</sup> Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey,  $P=0,007$ ,  $CV=24,52\%$ ,  $DMS=47,54$

Houve efeito da inoculação ( $P \leq 0,05$ ) sobre TGR, GLP e PRT e o grupo I apresentou médias mais altas nas duas primeiras e mais baixa na última em relação ao NI, como pode ser observado na tabela 8. O aumento dos TGR ocorre em casos como obesidade, diabetes, pancreatite aguda, síndrome nefrótica, uremia e hipotireoidismo (DOLES, 2007). Pode ocorrer também pelo aumento da atividade da lipase hormônio sensível (WANNACHER *et al.* 1992). A subunidade A da enterotoxina produzida pela *E. coli* aumenta a produção de AMP cíclico por desregular a atividade da adenilciclase, o que provoca, por um lado, perda de água e de eletrólitos via intestinal e, por outro uma ativação da proteinaquinase que estimula a lipase hormônio sensível (GROISMAN, 2001).

Para MATEOS *et al.* (2002) estados inflamatórios retardam o acesso à alimentação e água, resultando em redução na taxa de absorção de aminoácidos e de outros nutrientes no intestino delgado e podem reduzir a habilidade de produzir anticorpos contra as doenças. No entanto, como primeira resposta imunitária, o desafio bacteriano aumenta a necessidade de nutrientes metabólicos, para atender a demanda de células de defesa do organismo. Aumentam também a demanda e as taxas de oxidação de aminoácidos, o que requer a atuação de antioxidantes intracelulares, como glutathione, que para serem sintetizados, requerem cistina e glutamina. As proteínas totais apresentam-se diminuídas em casos de síndrome nefrótica, hiperidratação, queimaduras severas, desnutrição, insuficiência renal, distúrbios da síntese proteica e em síndromes de má absorção (DOLES, 2007).

Não houve efeito da interação tratamento x inoculação sobre PRT e COL, mas houve para GLP. A ausência de efeitos sobre PRT contrariam a expectativa na medida em que taninos complexam proteínas, tornando-as insolúveis que, assim são excretadas, estimulam a secreção de proteínas intestinais endógenas que causam erosão da mucosa intestinal, afetando negativamente a utilização de nitrogênio. Para JANSMAN (1993), taninos inibem enzimas como tripsina, quimiotripsina,  $\alpha$ -amilase, dipeptidase,  $\alpha$ -glucosidase, sacarase, vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> e ferro. Contrariam também MARZO *et al.* (2002) que testaram AT em machos Leghorn até 15 dias de idade e observaram menor coeficiente de digestibilidade da proteína para o grupo testado com AT.

Estes resultados contrariam também QIYU *et al.* (2003) que testaram sorgo em dietas de galinhas Leghorn e concluíram que níveis crescentes de taninos aumentavam o percentual de proteínas excretadas. Atribuíram o fato a formação de compostos insolúveis tanino-proteína. Diferem também de TEBIB *et al.* (1996) que sugerem que agregados tanino-nutriente resultantes induzem a menor digestibilidade da dieta, diminuem a atividade enzimática bacteriana cecal e colaboram com o incremento da excreção fecal de nitrogênio e menor desempenho. Ou de OLIVEIRA *et al.* (2000) que citam resultados discordantes de efeitos dos taninos sobre a mucosa gástrica e duodenal provocando necrose, atrofia e redução de tamanho de órgãos. Mas estão de acordo com os resultados de NYACHOTI *et al.* (1996) que testaram sorgo com alto tanino em dietas e não observaram diferenças significativas da percentagem de retenção de nitrogênio entre os tratamentos, embora sugeriram que a hipertrofia pancreática observada se deve à necessidade de suprir a demanda por tripsina e  $\alpha$ -amilase complexadas por taninos na luz intestinal.

Ao compararmos as médias vemos que a inoculação associada ao ESUD aumentou as taxas de GLP quando comparada ao lote NI, como consta na tabela 10, mas não houve diferenças quando considerado apenas os níveis de inclusão de SUI. O metabolismo da GLP está ligado diretamente à atividade da insulina. Estes resultados contrariam JANSMAN (1993) que relataram uma interação negativa entre polifenóis e a taxa de glicose absorvida. Quando adicionaram a dieta um potente inativador de taninos (poliamida) não registraram aumento significativo no nível de absorção, fato que indica a complexidade de fatores envolvidos. Contrariam também WELSCH *et al.* (1989) apud JANSMAN, (1993) ao afirmarem que ácido tânico reduz a glicose em ratos. Ou PINENT *et al.* (2004) que utilizaram procianidina de extrato de semente de uva *in vitro* e *in vivo*, em dietas de ratos induzidos laboratorialmente a *diabetes mellitus* tipo I e constataram que sua utilização imita a atividade da insulina em células insulino-sensíveis, levando a atividade antihiperélglicêmica, além de promover melhor status oxidativo celular.

**Tabela 10-Comparação de médias de glicose entre lote não inoculado (NI) e inoculado (I) aos 21 dias de idade**

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
NI	213.69 <sup>bc</sup>	215.37 <sup>bc</sup>	202.60 <sup>c</sup>	215.73 <sup>bc</sup>	216.28 <sup>bc</sup>	220.88 <sup>bc</sup>
I	232.74 <sup>abc</sup>	211.50 <sup>bc</sup>	255.73 <sup>a</sup>	227.37 <sup>abc</sup>	237.63 <sup>ab</sup>	220.15 <sup>bc</sup>

T1- controle negativo DB mais 2,35 % de caolin .T2 DB mais 0,05% de flavomicina e sulfato de colistina e 2,30% de caolin. T3- DB mais 0,04% de ESUD e 2,31% de caolin. T4, T5 e T6 DB mais 0,1; 0,47 e 2,35 %, de semente de uva e 2,25, 1,88 e zero de caolin, respectivamente

<sup>abc</sup> Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si (P< 0,05) pelo teste de Tukey, P=0,002, CV=6,95%, DMS=33,57

Houve efeito da interação tratamento x inoculação sobre pH cecal, como consta na tabela 9. E, na tabela 11, ao compararmos as médias nota-se que a inoculação tornou mais ácido o pH cecal apenas para o tratamento T4. Nota-se também que o T4 apresenta pH cecal mais alcalino quando comparado com outros tratamentos do grupo NI. Baixos níveis de SUI não favorecem o crescimento de bactérias ácido-láticas, produtoras de ácidos graxos voláteis, semelhante a TEBIB *et al.* (1996) para quem compostos fenólicos de uva aumentam o conteúdo de ácidos graxos voláteis (ácido acético, propiônico e butírico) tornando mais ácido o pH cecal de ratos. Já KUBENA *et al.* (2001) testaram dois níveis de inclusão de AT em

frangos e observaram que o ácido tânico deprime a taxa de crescimento e não compromete a eficiência da exclusão competitiva e que esta favoreceu o aumento da concentração de ácido propiônico cecal tornando as aves, que não receberam a cultura starter, menos suscetíveis a infecção por *S. tiphimurium*.

**Tabela 11-Comparação de pH cecal entre lote não inoculado (NI) e inoculado (I) aos 21 dias de idade**

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
NI	5.52 <sup>b</sup>	5.23 <sup>b</sup>	5.83 <sup>ab</sup>	6.55 <sup>a</sup>	5.43 <sup>b</sup>	5.65 <sup>ab</sup>
I	5.59 <sup>b</sup>	5.81 <sup>ab</sup>	5.54 <sup>b</sup>	5.45 <sup>b</sup>	5.60 <sup>b</sup>	5.63 <sup>b</sup>

T1- controle negativo DB mais 2,35 % de caolin .T2 DB mais 0,05% de flavomicina e sulfato de colistina e 2,30% de caolin. T3- DB mais 0,04% de ESUD e 2,31% de caolin. T4, T5 e T6 DB mais 0,1; 0,47 e 2,35 %, de semente de uva e 2,25, 1,88 e zero de caolin, respectivamente.

<sup>ab</sup> Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si (P< 0,05) pelo teste de Tukey, P=0,002, CV=6,52%, DMS=0,91

Não houve efeito sobre COL em qualquer interação testada. Estes resultados se parecem com DIAS (2004) que testou AT e sorgo com diferentes concentrações de taninos em frangos e com QIYU *et al.* (2003) que testaram sorgo na dieta de frangos e concluíram que níveis de 0,48 a 0,64% de tanino, respectivamente, não levam a alterações significativas em níveis plasmáticos de lipídeos totais e/ou colesterol. Mas, contrariam SILVA *et al.* (2001), que, ao testaram flavonóides em frangos e ratos, observaram diminuição dos níveis plasmáticos de COL, não apresentando, entretanto, reduções nos níveis de COL. Foram também diferentes de ARIJA *et al.* (2006) que testaram feijão e observaram diminuição significativa na taxa de COL de frangos, independente da forma utilizada, cru ou extrusada.

### 3.2.4-Conclusão

A inclusão de subprodutos da uva não influenciou as variáveis zootécnicas e coeficientes de digestibilidade, mas alterou o metabolismo e diminuiu as médias dos triglicerídeos plasmáticos. A inoculação piorou o ganho de peso e o peso final, mas melhorou o coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica, além de diminuir os níveis plasmáticos de proteínas totais, aumentar os triglicerídeos e glicose, especialmente quando associada ao extrato de semente de uva desengordurado. O colesterol não apresentou diferenças em qualquer interação. Os resultados contraditórios indicam a necessidade de novos experimentos.

### Bem Estar Animal

Este trabalho foi avaliado pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal da Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria sob o protocolo número 23081.0010766/2007-20 sendo aprovado sem ressalvas por ter cumprido todas as exigências em relação ao Bem Estar Animal

### 3.2.5-Referências bibliográficas

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of International**. Arlington, Virginia, 1995 1-2 v. 1094 p.

ARIJA, I., *et al.* Nutritional Evaluation of Raw and Extruded Kidney Bean. **Poultry Science**, Champaign, v.85, p.635–644. 2006.

ASSIS, A., *et al.* Patogenicidade *In Vivo* e *In Vitro* de Amostras de *Escherichia Coli* de Origem Aviária. **Revista Brasileira Ciência Avícola**, Campinas, Brasil, v.3, n.2. 2001.

BATISTA, L. S. **Flavonóides e mananoligossacarídeos em dietas para frangos de corte**. Botucatu, SP, 2005. 54 p. Dissertação de Mestrado Faculdade de Veterinária, UNESP-Universidade Estadual Paulista.

BAYDAR, N. G., *et al.* Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis*

*vinifera*) extracts. **Food Control**, USA, v.15, n.5, p.335-339. 2004.

BORATTO, A. J., *et al.* Uso de Antibiótico, de Probiótico e de Homeopatia, em Frangos de Corte Criados em ambiente de Conforto, Inoculados ou não com *Escherichia coli*. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.6, p.1477-1485. 2004.

CARRIJO, A. S., *et al.* Alho em pó na alimentação alternativa de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.7, p.673-679. 2002.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994 v. 135 p.

DIAS, L. T. S. **Efeito do tanino e do ácido tânico sobre os lipídios plasmáticos e morfometria do fígado e do pâncreas de frango de corte**. 2004.46p., Tese de Doutorado em Zootecnia – Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

DOLES. **Bioquímica Clínica**. Kits para determinação enzimática. Goiânia 15 out.2007: Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda. Capturado em 15 out. 2007. On-line. Disponível na Internet: <http://www.doles.com.br/prods/biocli.html>

EMATER. **Associação Riograndense de Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural**. Missão Institucional. Porto Alegre, 15 out. 2007. Capturado em 15 out. 2007. Online. Disponível na Internet: <http://www.emater.tche.br/site/inicial/ptbr/php/index.php>

GARCIA, R. G., *et al.* Avaliação do desempenho e de parâmetros gastrintestinais de frangos de corte alimentados com dietas formuladas com sorgo alto tanino e baixo tanino. **Ciência agrotécnica**, Lavras v.29, n.6, p.1248-1257. 2005.

GONÇALVES, P. M. R. ***Escherichia coli* com detecção do gene *iss* por PCR, Micoplasmas e Salmonelas na qualidade sanitária de frango de corte ao abate**. Niterói-RJ 2005. Tese de Doutorado Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, 2005.

GROISMAN, E. A. **Principles of Bacterial Pathogenesis**. St. Louis, Missouri: Washington University School of Medicine, 2001 v. 826 p.

GÜL, M., *et al.* Effects of Additives on Laying Performance and Egg Quality of Hens Fed a High Level of Common Vetch Seed (*Vicia sativa*) During the Peak Period. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, v.14, p.217–225. 2005.

HATZIDIMITRIOU, E., *et al.* Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. **Food Chemistry**, UK, v.105, n.4, p.1504–1511. 2007.

HIRSH, *et al.* **Veterinary Microbiology**. Davis, California. : Blackwell Science, INC., 1999 v. 479 p.

JANSMAN, A. J. M. Tannins in feedstuffs for simple-stomached animals. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v.6, p.209-236. 1993.

JAYAPRAKASHA, G. K., *et al.* Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Research International**, Canadá, v.36, p.117-122. 2003.

KOZLOSKI, G. V., *et al.* Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mott) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.104, p.29-40. 2003.

KUBENA, L. F., *et al.* Effects of tannic acid on cecal volatile fatty acids and susceptibility to *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.80, p.1293–1298. 2001.

MANSOORI, B.; ACAMOVIC, T. The effect of tannic acid on the excretion of endogenous methionine, histidine and lysine with broilers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.134, p.198–210. 2007.

MARZO, F., *et al.* Liver proteolytic activity in tannic acid-fed birds. **Poultry Science**, Champaign, v.81, p.92–94. 2002.

MATEOS, G. G., *et al.* The Feasibility of Using Nutritional Modifications to Replace Drugs in Poultry Feeds. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, v.11, p.437–452. 2002.

MERTENS, D. R., *et al.* Relationship of rate and extent of digestion to forage utilization - A dynamic model evaluation. . **Journal of Animal Science**, Champaign , v.54, p.895-905. 1982.

MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Tribuna Farmacêutica**, Curitiba, Brasil, v.47, n.1, p.1-19. 1979.

NCCLS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A4.** Wayne,Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standard, 1997 v. 32 p.

NYACHOTI, C. M., *et al.* Response of broiler chicks fed a high-tannin sorghun diet. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, v.5, p.239-245. 1996.

OLIVEIRA, P. B., *et al.* Influência de fatores antinutricionais da leucena (*Leucaena leucocephala* e *Leucaena cunningan*) e do feijão guandu (*Cajanus cajan*) sobre o epitélio intestinal e o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.6, p.1759-1769. 2000.

PINENT, M., *et al.* Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulin-mimetic activity in insulin-sensitive cell lines. **Endocrinology**, USA, v.145, n.11, p.4985–4990. 2004.

QIYU, D., *et al.* Tannins in Livestock Feeds in China. **Aciar Proceeding**, Austrália, v.92, p.76-180. 2003.

RHODES, P. L., *et al.* Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety Ribier. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.107, n.3, p.281-286. 2006.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de alimentos e Exigências Nutricionais.** Viçosa:UFV, Departamento de Zootecnia, 2000, 141 p.

SAS, Statistical Analysis System. **SAS/STAT user's guide: statistics**. Cary, USA: SAS Institute, 1993 v. 943 p.

SCHNEIDER, B. A., *et al.* **The eval of feeds through digest experiments**. Athens: The University of Georgia, 1975. 423p.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos. (Métodos químicos e biológicos)**. Viçosa, MG: UFV, 1981. 165 p.

SILVA, R. R. D., *et al.* Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.51, n.3, 12p. 2001.

SLTC. **Official Methods of Analysis**. New York: Society of Leather Technologists and Chemist, 1996, 607 p.

TEBIB, K., BESANÇON, P. & ROUANET, J.M.. Effects of dietary grape seed tannins on rat cecal fermentation and colonic bacterial enzymes. **Nutrition Research**, USA.v.16, n.1, p.105-110, 1996.

TORRES, J. L., *et al.* Valorization of Grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.50, p.7548-7555. 2002.

UVIBRA. **Dados estatísticos. Produção de uvas**. União Brasileira de Vinhos e Derivados. Bento Gonçalves, 15 out. 2007. Capturado em 15 out.2007. Online. Disponível na Internet: [http://www.uvibra.com.br/pdf/safra\\_uva1998-2007.pdf](http://www.uvibra.com.br/pdf/safra_uva1998-2007.pdf)

WANNACHER, C.M.D. *et al.* **Bioquímica Fundamental**. Porto Alegre, Ed. Universidade Federal do rio Grande do Sul, 1992, 6ª ed. 498 p.

## 4-DISCUSSÃO GERAL

A composição centesimal dos subprodutos da uva mostrou valores parecidos com os relatados por LLOBERA *et al.* (2006), mas menores de MM, PB e ENN dos relatados por BAUMGÄRTEL *et al.* (2006), BARROSO *et al.* (2006) e maiores de MM, PB, FDN e FDA de GARCIA *et al.* (2002). A prensagem da SUI rendeu 13,4% de óleo, superior aos 10,2% observados por CAO *et al.* (2003), mas dentro da expectativa de extração de 10 e 20% de óleo. Na composição de ácidos graxos do óleo evidenciou-se a grande concentração de ácido linolêico (67,73%) em relação ao demais ácidos graxos. As diferenças observadas das variáveis até agora analisadas podem ser decorrentes de diferentes metodologias de coleta de amostras, sazonalidade, cultivares e/ou estágio de maturação, localizações geográficas ou procedimentos de armazenagem (ensilagem).

O rendimento de 10,3% de compostos polares do ESUD foi superior ao extraído por ARVANITTOYANNIS *et al.* (2006) e JAYAPRAKASHA *et al.* (2003) e menor que BAYDAR *et al.* (2006). Quando analisado, o extrato apresentou coloração acastanhada, com presença de heterosídeos flavônicos e antocianicos, taninos condensados, traços de taninos hidrolisáveis, ácidos voláteis, esteróides e/ou terpenos, fenóis, gomas e mucilagens e ácidos orgânicos e pH 5. Os taninos presentes na SUI e ESUD são em sua maioria condensados, sendo que 60 a 70% dos compostos fenólicos da uva estão contidos na semente, na forma de monômeros de flavan-3-ols (catequina, epicatequina e epigalocatequina) e ésteres com ácido gálico, ácidos fenólicos (ácido gálico), dímeros procianidina B1, B2 e outros dímeros (B3, B4, B5, B6, B7, B8), trímeros (C1), tetrâmeros e polímeros (HATZIDIMITRIOU *et al.* 2007).

O total de substâncias com atividade tanante da SUI, SUD e ESUD foi de 2,4; 3,3 e 50,6 % e para substâncias não-tanantes de 16,1; 21 e 8,2 %, respectivamente. Esta capacidade é atribuída a compostos fenólicos (taninos condensados e hidrolisados) e corresponde somente aos compostos que tenham de 3 a 7 unidades monoméricas condensadas. A quantidade de compostos insolúveis foi de 72,9; 69 e 35,8 % para SUI, SUD e ESUD, respectivamente. Esta fração é formada por fenóis muito condensados, acima de sete unidades e presentes na porção de fibra bruta.

A CIM do ESUD para *E. coli* teve média geométrica (MG) de 393,6 µg/ml. O ESUD apresentou valores da CIM inferiores aos observadas por JAYAPRAKASHA *et al.* (2003), para as mesmas bactérias. Valores de CIM entre 50-500 µg/ml são consideradas de elevada

atividade, sendo que de 600 a 1.500 µg/ml e acima de 1.500 µg/ml são consideradas de média e baixa atividade, respectivamente (SARTORATTO *et al.* 2004).

A atividade antioxidante do ESUD teve a concentração inibitória do DPPH (IC<sub>50</sub>) valores de 5,52 e 8,08 µg/ml para ácido ascórbico. O ESUD apresentou um percentual de inibição linear e crescente do DPPH que estabilizou em 94,26 % na concentração de 200 µg/ml que foi semelhante ao do ácido ascórbico, com 96,58 % de inibição, na mesma concentração. No entanto, valores de 25 µg/ml de ESUD apresentam mais de 90 % de inibição do radical livre DPPH.

Os níveis mais altos de inclusão de SUI (0,056% de taninos), não interferiram nas variáveis analisadas. Estes resultados estão de acordo com QIYU *et al.* (2003) que afirmam que níveis de até 0,64% de tanino não provocam perdas significativas no GP, CA ou em qualquer outra variável testada. Mas ressaltam que níveis de 1,5 % de taninos são suficientes para reduzir significativamente a atividade de proteinases totais, tripsina e  $\alpha$ -amilase de marrecos de Pequim. No entanto TEBIB *et al.* (1996) afirmam que 0,0071% de taninos são suficientes para deprimir significativamente o GP de ratos. Já BATISTA, (2005) afirma que 0,03% de flavonóides na dieta de frango são suficientes para melhorar a conversão alimentar. Para GARCIA *et al.* (2005) 0,182% de taninos em dietas de frango de corte são suficientes para piorar a conversão alimentar, na fase de 1 a 21 dias.

A inoculação piorou as médias de PF, GPM e GPMD. Para BORATTO *et al.* (2004) a inoculação da *E. coli* também piorou o desempenho das aves, aumentando o peso relativo do coração, do fígado e dos intestinos no período de 1 a 21 dias. Outros autores como MARZO *et al.* (2002) que testaram AT em machos Leghorn até os 15 dias de idade observaram uma diminuição de CR e aumento do peso de fígado para o grupo controle. Relatam intensa degradação enzimática de aminoácidos hepáticos e o aumento da atividade proteolítica hepática e como consequência a diminuição de ganho de peso devido alterações no catabolismo protéico e nos valores nutritivos da dieta. O desafio bacteriano aumenta a demanda de nutrientes metabólicos e compromete a síntese protéica a partir de aminoácidos (MATEOS *et al.* 2002).

Não houve efeito da interação tratamento x inoculação para CDMS, CDMO e CDPB. Mas houve efeito da inoculação sobre o CDMO, onde as médias do grupo NI são menores que o do I. A ausência de efeito contraria a expectativa já que os complexos taninos-nutrientes

resultantes induzem a uma menor digestibilidade da dieta, estimulam a secreção de proteínas intestinais endógenas, diminuem a atividade enzimática bacteriana cecal e colaboram com o incremento da excreção fecal de nitrogênio e menor desempenho (TEBIB *et al.* 1996; MARZO *et al.* 2002; QIYU *et al.* 2003). A inoculação aumentou o percentual de CDMO apenas nas aves que ingeriram o ESUD.

As taxas de TGR variaram em todas as interações testadas, demonstrando a sensibilidade desta variável em relação aos tratamentos e à inoculação. Houve efeito de tratamento, onde o T6 apresentou médias mais baixas que o T3. Além disso, alta inclusão de SUI no grupo inoculado apenas, diminuiu a média desta variável quando comparadas com o T4 e T5. Não houve diferenças entre as médias no grupo não inoculado. A inoculação também interferiu sobre TGR e GLP, onde o grupo I teve média mais alta do que o grupo NI. Estes resultados são parecidos com SILVA *et al.* (2001), ARIJA *et al.* (2006). Mas diferentes de DIAS, (2004) que ao testar AT e sorgo observou que altas concentrações de ambos aumentam significativamente os TGR e que o primeiro aumentou significativamente os níveis de TGR no LDL e de TGR no VLDL.

Não houve efeito da interação tratamento x inoculação sobre PRT, havendo, entretanto efeito da inoculação, onde o grupo inoculado apresentou médias mais baixas que o grupo não inoculado. Houve efeito da inoculação para PRT onde o grupo I teve médias menores do que o lote NI. Estados inflamatórios retardam o acesso à alimentação e água, resultando numa redução na taxa de absorção de aminoácidos e de outros nutrientes no intestino delgado e podem reduzir a habilidade de produzir anticorpos contra as doenças (MATEOS *et al.* 2002). A ausência de efeito da interação contraria a expectativa na medida em que taninos complexam proteínas, tornando-as insolúveis, que assim são excretadas, estimulam a secreção de proteínas intestinais endógenas que causam erosão da mucosa intestinal, afetando negativamente a utilização de nitrogênio, inibem enzimas como tripsina, quimiotripsina,  $\alpha$ -amilase, dipeptidase,  $\alpha$ -glucosidase, sacarase, vitaminas como vit. A, vit. B<sub>1</sub>, vit. B<sub>12</sub> e minerais como ferro. (JANSMAN, 1993; TEBIB *et al.* 1996; OLIVEIRA *et al.* 2000; MARZO *et al.* 2002; QIYU *et al.* 2003). Mas estão de acordo com os resultados de NYACHOTI *et al.* (1996) que testaram sorgo com alto tanino em dietas e não observaram diferenças significativas da percentagem de retenção de nitrogênio entre os tratamentos, embora sugeriram que a hipertrofia pancreática observada se deve a necessidade de suprir a demanda por tripsina e  $\alpha$ -amilase complexadas por taninos na luz intestinal.

Houve efeito da interação tratamento x inoculação e da inoculação sobre GLP. A inoculação associada ao ESUD aumentou as taxas de glicose quando comparada ao lote NI, mas não houve diferenças quando considerado os níveis de inclusão de SUI. O metabolismo da GLP está ligado diretamente à atividade da insulina. Estes resultados contrariam WELSCH *et al.*, (1989) e MOTILVA *et al.* (1983) ambos citados por JANSMAN, (1993) e PINENT *et al.* (2004), que relataram uma interação negativa entre polifenóis e a taxa de glicose absorvida.

Houve efeito da interação tratamento x inoculação sobre pH cecal, mas a concentração de SUI isoladamente não interferiu na variável. Ao comparar as médias, nota-se que o T4 apresentou pH cecal mais ácido no grupo inoculado. Baixos níveis de SUI não favorecem o crescimento de bactérias ácido-láticas, produtoras de ácidos graxos voláteis. Diferente de TEBIB *et al.* (1996) e KUBENA *et al.* (2001) para quem compostos fenólicos de uva aumentam o conteúdo de ácidos graxos voláteis (ácido acético, propiônico e butírico) tornando mais ácido o pH cecal.

Não houve efeito sobre COL em qualquer interação testada. Estes resultados parecem com DIAS, (2004) e com QIYU *et al.* (2003). Mas contrariam SILVA *et al.* (2001), PEREIRA (1999) apud SILVA *et al.* (2001) e ARIJA *et al.* (2006) que, ao testarem compostos fenólicos, observaram uma diminuição dos níveis plasmáticos de COL.

## 5-CONCLUSÃO GERAL

Subprodutos de uva apresentam conteúdo de fibra que pode comprometer seu aproveitamento como ingrediente em dietas de frangos de corte. O extrato de semente de uva desengordurado apresentou alta atividade antibacteriana *in vitro* contra cepas de *S. aureus* e *E. coli*, baixa atividade contra cepas de *Salmonella sp.* e atividade antioxidante comparável ao ácido ascórbico, fato que indica seu possível aproveitamento em dietas de frango de corte e na indústria de alimentos. A atividade tanante foi considerada baixa para a semente de uva e alta para o extrato de semente de uva desengordurado.

A inclusão de subprodutos da uva não influenciou as variáveis zootécnicas e coeficientes de digestibilidade. A inoculação piorou o ganho de peso e o peso final, mas melhorou o coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica. A maior inclusão de semente de uva integral alterou o metabolismo e diminuiu as médias dos triglicerídeos plasmáticos. A inoculação diminuiu os níveis plasmáticos de proteínas totais, mas aumentou triglicerídeos e glicose, especialmente quando associada ao extrato de semente de uva desengordurado. O colesterol não apresentou diferenças em qualquer interação. Os resultados contraditórios indicam a necessidade de novos experimentos.

## 6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

ABEF. Associação Brasileira de Produtores e Exportadores de Frango, São Paulo, SP. 15 out. 2007. Capturado em 31/08/2006. On-line. Disponível na Internet: <http://www.abef.com.br/Estatisticas/MercadoMundial/MercadoMundial.asp>

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of International**. Arlington, Virginia, 1995 1-2 v. 1094 p.

ARIJA, I., *et al.* Nutritional Evaluation of Raw and Extruded Kidney Bean. **Poultry Science**, Champaign, v.85, p.635–644. 2006.

ARVANITTOYANNIS, I. S.; LADAS, D.; MAVROMATIS, A. Potential uses and applications of treated wine waste. **International Journal of Food Science and Technology**, UK, v.41, p.475–487, 2006.

ASSIS, A; SANTOS, B.M.. Patogenicidade *In Vivo* e *In Vitro* de Amostras de *Escherichia Coli* de Origem Aviária. **Revista Brasileira Ciência Avícola**, Campinas, Brasil, v.3, n.2. 2001.

BARROSO, D. D., *et al.* Desempenho de ovinos terminados em confinamento com resíduo desidratado de vitivinícolas associado a diferentes fontes energéticas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1553-1557, 2006.

BATISTA, L. S. **Flavonóides e mananoligossacarídeos em dietas para frangos de corte**. Botucatu, SP, 2005. 54 p. Dissertação de Mestrado Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo.

BAUMGÄRTEL, T., *et al.* A note on digestibility and energy value for sheep of different grape pomace. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v.67, n.2-3, p.302-306, 2006.

BAYDAR, N. G.; OZKAN, G.; SAGDIÇ, O. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. **Food Control**, USA, v.15, n.5, p.335-339, 2004.

BAYDAR, N. G., *et al.* Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts. **International Journal of Food Science and**

**Technology**, UK, v.41, p.799–804, 2006.

BORATTO, A. J., *et al.* Uso de Antibiótico, de Probiótico e de Homeopatia, em Frangos de Corte Criados em ambiente de Conforto, Inoculados ou não com *Escherichia coli*. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.6, p.1477-1485. 2004.

BUTOLO, J. E. **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. Campinas, 2002 v. 430 p.

CAO, X., ITO, Y.; Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1021, n.1, p.117-124, 2003.

CARINI, M., *et al.* UVB-induced hemolysis of rat erythrocytes: Protective effect of procyanidins from grape seeds. **Life Sciences**, Amsterdam, v.67, n.15, p.1799-1814, 2000.

CARRIJO, A. S., *et al.* Alho em pó na alimentação alternativa de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.7, p.673-679. 2002.

CHOI, C. W., *et al.* Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Science**, Amsterdam, v.163, p.1161-1168, 2002.

CONTINI, E.; TALAMINI, D.J.D. Barreiras da União Européia para a Importação de Produtos de Suínos e Aves do Brasil. Palestra Conjuntural de Abertura do Seminário Internacional de Aves e Suínos da AveSui 2004 e III Seminário Internacional de Aves e Suínos. **Anais.....** Florianópolis, SC maio 2004 Disponível em: [www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_artigos/artigos\\_e7t88c9g.html](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_artigos/artigos_e7t88c9g.html).

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994 v. 135 p.

DA SILVA, L. P.; NÖRNBERG, J.L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33 n.5, 983-999, 2003.

DESCHAMPS, F. C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum Schumach*).

**Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.28, n.6, p.1358-1369, 1999.

DIAS, L. T. S. **Efeito do tanino e do ácido tânico sobre os lipídios plamáticos e morfometria do fígado e do pâncreas de frango de corte**. 2004.46p., Tese de Doutorado em Zootecnia – Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

DOLES. **Bioquímica Clínica**. Kits para determinação enzimática. Goiânia 15 out.2007: Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda. Capturado em 15 out. 2007. On-line. Disponível na Internet: <http://www.doles.com.br/prods/bioci.html>

EMATER. **Associação Riograndense de Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural**. Missão Institucional. Porto Alegre, 15 out. 2007. Capturado em 15 out. 2007. Online. Disponível na Internet: <http://www.emater.tche.br/site/inicial/ptbr/php/index.php>

FRANÇA, J.M. **Barreiras Técnicas e Desempenho da Cadeia Produtiva de Frangos de no Estado do Paraná**. 2006. 130 p. Tese de Doutorado em Engenharia de Produção e Sistemas – Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção e Sistemas. Universidade Federal de Santa Catarina.

GAO, Z., *et al.* Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1472, n.3, p.643-650, 1999.

GARCIA, J., *et al.* Effect of inclusion of defatted grape seed meal in the diet on digestion and performance of growing rabbits. **Journal Animal Science**, Champaign, v.80, p.162–170, 2002.

GARCIA, R. G., *et al.* Avaliação do desempenho e de parâmetros gastrintestinais de frangos de corte alimentados com dietas formuladas com sorgo alto tanino e baixo tanino. **Ciência agrotécnica**, Lavras v.29, n.6, p.1248-1257. 2005.

GAUTHIER, R. Organic acids and essential oils, a realistic alternative to antibiotic growth promoters in poultry. In : Fórum Internacional de Avicultura. 17 a 19 de agosto de 2005. Foz do Iguaçu, Brasil. **Anais.....** Foz do Iguaçu, Brasil. Capturado em 15 out. 2007. On-line. Disponível na Internet: <http://www.jefo.ca/pdf/avicola/AnaisAveExpo-R.Gauthier.pdf>

GONÇALVES, P. M. R. **Escherichia coli com detecção do gene iss por PCR, Micoplasmas e Salmonelas na qualidade sanitária de frango de corte ao abate**. Niterói-RJ 2005. Tese de

Doutorado Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, 2005.

GROISMAN, E. A. **Principles of Bacterial Pathogenesis**. St. Louis, Missouri: Washington University School of Medicine, 2001 v. 826 p.

GÜL, M., *et al.* Effects of Additives on Laying Performance and Egg Quality of Hens Fed a High Level of Common Vetch Seed (*Vicia sativa*) During the Peak Period. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, v.14, p.217–225. 2005.

HARTMAN, L., *et al.* Rapid preparation of fatty acid methylesters from lipids. **Laboratory Practice**, London, v.22, n.8, p.475-476, 1973.

HATZIDIMITRIOU, E.; NENADIS, N.; TSIMIDOU, M.Z. Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. **Food Chemistry**, UK, v.105, n.4, p.1504–1511. 2007.

HIRSH, *et al.* **Veterinary Microbiology**. Davis, California. : Blackwell Science, INC., 1999 v. 479 p.

JANSMAN, A. J. M. Tannins in feedstuffs for simple-stomached animal. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v.6, p.209-236. 1993.

JAYAPRAKASHA, G. K.; SELVI, T.; SAKARIAH, K.K. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Research International**, Canadá, v.36, p.117-122, 2003.

KOMAREK, A. R. A filter bag procedure for improved efficiency of fiber analysis. **Journal of Dairy Science**, Palo Alto, USA, v.76, p.250 (suppl. 1),1993.

KOZLOSKI, G. V., *et al.* Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mott) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.104, p.29-40, 2003.

KUBENA, L. F., TOSAR, A., SANTIDRIAN, S. Effects of tannic acid on cecal volatile fatty acids and susceptibility to *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks. **Poultry**

**Science**, Champaign, v.80, p.1293–1298. 2001.

LARBIER, M. *et al.* **Raw Materials Employed in Poultry Production** In: Nutrition and Feedings of Poultry. Trowbridge, Wiltshire, UK. Nottingham University Press, 1992. p.305

LANGHOUT, P. **Alternativas ao uso de Quimioterápicos na Dieta de Aves: A visão da Indústria e recentes avanços**. In: Conferência Apinco 2005 de Ciência e Tecnologia Avícolas. 2005, Santos, SP, Brasil: **Anais.....** Apinco. 04,05 e 06 de maio de 2005. 21-39 p.

LESSON, S. e SUMMERS, J. D.: **Antibiotics and Growth Promoters** In: Scott's Nutrition of the Chicken. Ontário, Canadá. University Books, 2001. p.601

LLOBERA, A.; CANELLAS, J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. **Food Chemistry**, UK, v.101, n.3, p. 659-666, 2006.

MANSOORI, B.; ACAMOVIC, T. The effect of tannic acid on the excretion of endogenous methionine, histidine and lysine with broilers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.134, p.198–210. 2007.

MAPA. Ministério da agricultura Pecuária e Abastecimento. **Agricultura Brasileira em números, anuário 2005**. Capturado em 10 setembro 2007. On-line. Disponível na Internet: <http://www.agricultura.gov.br/estatísticas/agricultura>

MARZO, F.; URDANETA, E.; SANTIDRIAN, S. Liver Proteolytic Activity in Tannic Acid-Fed Birds. **Poultry Science**, Champaign, v.81, p.92–94. 2002.

MATEOS, G.G.; LÁZARO, R.; GRACIA, M.I. The Feasibility of Using Nutritional Modifications to Replace Drugs in Poultry Feeds. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, v.11, p.437–452. 2002.

MENEGATTI, G. A., Desenvolvimento, sustentabilidade e agricultura familiar. EMATER/RS. Porto Alegre, RS. Capturado em 31/08/2006. On-line. Disponível na Internet: <http://www.emater.tche.br/site/biblioteca/ptbr/html/basedados/digital/art18.pdf>

MERTENS, D.R.; ELY, O.L. Relationship of rate and extent of digestion to forage utilization-A dynamic model evaluation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.54, p.895-905, 1982.

MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Tribuna Farmacêutica**, Curitiba, v.47, n.1, p.1-19, 1979.

MORENO, D. A., *et al.* Inhibitory Effects of Grape Seed Extract on Lipases. **Nutrition**, USA, v.19, n.10, p.876-879, 2003.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. n. 3 ed. Approved standard M7-A4, PA. 1997.

NYACHOTI, C. M.; ATKINSON, J.L.; LEESON, S. Response of broiler chicks fed a high-tannin sorghum diet. **Journal Applied Poultry Research**, Athens v.5, p.239-245. 1996.

OLIVEIRA, P. B., *et al.* Influência de fatores antinutricionais da leucena (*Leucaena leucocephala* e *Leucaena cunningan*) e do feijão guandu (*Cajanus cajan*) sobre o epitélio intestinal e o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.6, p.1759-1769. 2000.

PINENT, M., *et al.* Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulin-mimetic activity in insulin-sensitive cell lines. **Endocrinology**, USA, v.145, n.11, p.4985-4990. 2004.

QIYU, D.; GUANGHAI, Q. Tannins in Livestock Feeds in China. **Aciar Proceeding**, Austrália, v.92, p.76-180. 2003.

RHODES, P. L., *et al.* Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety Ribier. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.107, n.3, p.281-286. 2006.

RIZZON, L. A.; MANFRÓI, V.; MENEGUZZO, J. **Elaboração de grapa na propriedade vinícola**. Bento Gonçalves: EMBRAPA UVA E VINHO, 1999 v. 24 p.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa:UFV, Departamento de Zootecnia, 2000, 141 p.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento** In. Taninos. Porto Alegre. Editora da UFRGS, 2004. p. 615-655

SARTORATTO, A. *et al.* Composition and antimicrobial activity of essential oils from

aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.35, p.275-280, 2004.

SAS, Statistical Analysis System. **SAS/STAT user's guide:statistics**. Cary, USA: SAS Institute, 1993 v. 943 p.

SCHNEIDER, B. A., *et al.* **The eval of feeds through digest experiments**. Athens: The University of Georgia, 1975. 423p.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos. (Métodos químicos e biológicos)**. Viçosa, MG: UFV, 1981. 165 p.

SILVA, R. R. D., *et al.* Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.51, n.3, 12p. 2001.

SLTC. Society of Leather Technologists and Chemist, **Official Methods of Analysis**. New York, 1996, 607 p.

TEBIB, K., *et al.* Polymeric grape seed tannins prevent plasma cholesterol changes in high-cholesterol-fed rats **Food Chemistry**, UK, v.49, n.4, p. 403-406, 1994.

TEBIB, K.; BESANGON, P.; ROUANET, J.M. Effects of dietary grape seed tannins on rat cecal fermentation and colonic bacterial enzymes. **Nutrition Research**, USA, v.16, n.1, p.105-110, 1996.

TORRES, J. L., *et al.* Valorization of Grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.50, p.7548-7555. 2002.

UVIBRA. **União Brasileira de Vinhos e Derivados**. Bento Gonçalves, RS. Capturado em 21/09/2006. On-line. Disponível na Internet: <http://www.uvibra.com.br/>

VAN SOEST, P. J., *et al.* Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharide in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Ithaca, USA, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

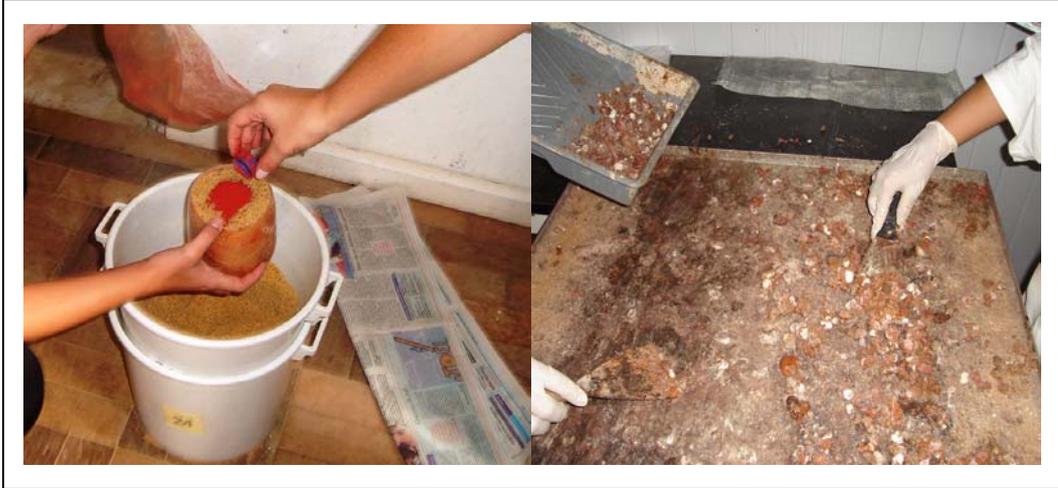
WANNACHER, C.M.D. *et al.* **Bioquímica Fundamental**. Porto Alegre, Ed. Universidade Federal do rio Grande do Sul, 1992, 6ª ed. 498 p.

## ANEXOS

## ANEXO A - Distribuição dos tratamentos nas baterias

		Lote não contaminado				Lote contaminado	
<b>entrada</b>	Bateria 1		Bateria 2		Bateria 3		<b>saída</b>
	T4-4	T5-1	T5-4	T2-5	T1-3	T3-3	
	T2-1	T2-4	T3-2	T1-1	T6-2	T4-2	
	5° andar		5° andar		5° andar		
	T4-5	T2-5	T6-5	T3-1	T6-4	T2-4	
	T2-2	T1-4	T1-5	T4-4	T1-4	T5-4	
	4° andar		4° andar		4° andar		
	T6-1	T4-3	T2-3	T3-4	T3-5	T4-5	
	T3-1	T1-2	T1-1	T1-5	T5-2	T6-3	
	3° andar		3° andar		3° andar		
T6-2	T5-5	T6-3	T2-3	T2-1	T5-1		
T3-3	T1-3	T4-1	T4-3	T3-2	T4-1		
2° andar		2° andar		2° andar			
T3-4	T5-3	T3-5	T6-1	T6-5	T5-5		
T6-4	T4-2	T5-2	T5-3	T1-2	T2-2		
1° andar		1° andar		1° andar			

**ANEXO B - Área reservada para lote inoculado**

**ANEXO C – Ensaio de digestibilidade**

**ANEXO D – Coleta de sangue para bioquímica sanguínea**