

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

EXTRATO DE CHÁ VERDE COMO ADITIVO PARA NOVILHAS LEITEIRAS

**DÉBORA DE OLIVEIRA STRIDER
ZOOTECNISTA/UNIPAMPA**

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia
Área de Concentração Nutrição e Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil.
Março, 2016.

CIP - Catalogação na Publicação

Débora de Oliveira, Strider
Extrato de chá verde como aditivo para novilhas
leiteiras / Strider Débora de Oliveira. -- 2016.
58 f.

Orientadora: Vivian Fischer.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2016.

1. Comportamento Ingestivo. 2. Consumo. 3.
Extratos Vegetais. 4. Ganho de Peso. I. Fischer,
Vivian, orient. II. Título.

DÉBORA DE OLIVEIRA STRIDER
Zootecnista

DISSERTAÇÃO

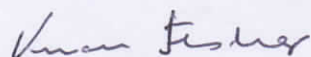
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM ZOOTECNIA

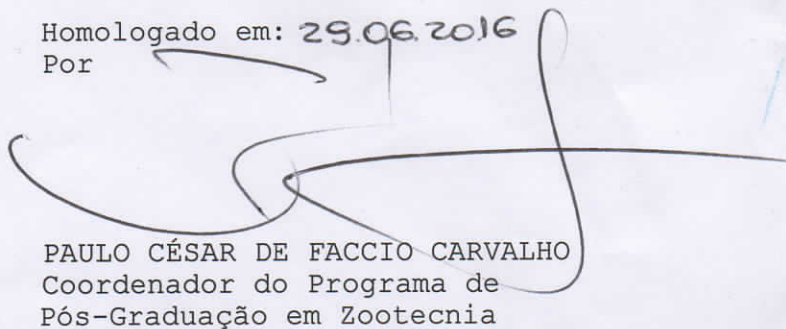
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 31.03.2016
Pela Banca Examinadora

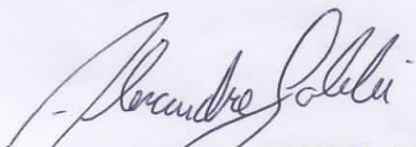
Homologado em: 29.06.2016
Por



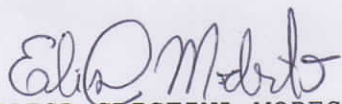
VIVIAN FISCHER
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador



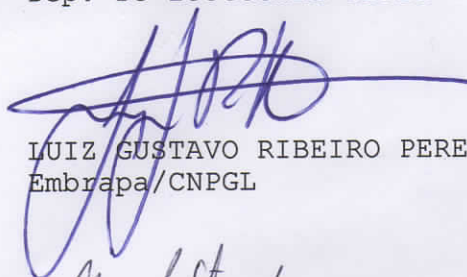
PAULO CÉSAR DE FACCIO CARVALHO
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



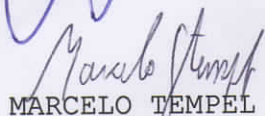
ALEXANDRE MOSSATE GABBI
Eurotec Nutrition do Brasil



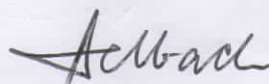
ELISA CRISTINA MODESTO
Dep. De Zootecnia UFRGS



LUIZ GUSTAVO RIBEIRO PEREIRA
Embrapa/CNPGL



MARCELO TEMPEL STUMPF
FURG



PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de Agronomia

Agradecimentos

À Deus.

Aos meus avós maternos Hélio e Zaira Strider, dizendo-lhes que foram seus braços fortes que me apoiaram frente aos momentos difíceis e que suas palavras e conselhos experientes me guiaram e motivaram ao longo desta caminhada.

À minha orientadora Dra Vivian Fischer, dizendo-lhe que a construção do meu perfil acadêmico profissional conta com inúmeros ensinamentos seus, os quais paciência, trabalho em conjunto e votos de perseverança serão sempre lembrados.

À Embrapa Pecuária Sul, que cedeu os animais e a infraestrutura utilizados neste estudo.

À pesquisadora Renata Suñe, pelo apoio.

Aos profissionais Altair Freitas, Ginovaldo Piña, Leandro Pires e Samuel Ferreira pelo apoio integral na condução deste estudo. Digo-lhes que os admiro profissionalmente e que a amizade desenvolvida no período que compreendeu este experimento estará descrita sempre, em minha jornada de vida.

Ao Laboratório de Hemo e Ectoparasitologia pelo apoio nas análises.

À estagiária Viviane Penteado, pela disponibilidade atribuída em prol deste estudo.

À Capes, pela bolsa de estudos.

Ao Núcleo de Pesquisa em Pecuária Leiteira e Comportamento Animal - NUPLAC.

Às colegas Carolina Santos e Sheila Bosco, dizendo-lhes que este estudo não estaria concluído sem a ajuda de vocês.

Às amigas Fernanda Dall'asta e Laureane Mathias, por estarem ao meu lado em todos os momentos que compreenderam esta jornada.

RESUMO

¹EXTRATO DE CHÁ VERDE COMO ADITIVO PARA NOVILHAS LEITEIRAS

Autora: Débora de Oliveira Strider

Orientadora: Prof. Dra. Vivian Fischer

O chá verde (*Camellia sinensis* L) apresenta potencial de uso em dietas dos animais domésticos devido à grande quantidade de polifenóis presentes em suas folhas. Pesquisas desenvolvidas com animais, realizadas primeiramente com cobaias, mostram resultados positivos na nutrição e comportamento animal. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de extrato de chá verde à dieta de novilhas leiteiras sobre o comportamento, consumo de concentrado e desenvolvimento corporal. Foram utilizadas no experimento 32 novilhas não gestantes. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados, com medidas repetidas no tempo e quatro tratamentos. As variáveis avaliadas foram: consumo de concentrado e matéria seca, ganho de peso, medidas corporais, comportamento ingestivo junto ao cocho e medidas fisiológicas. O consumo de concentrado foi maior ($P < 0,05$) nas doses zero e 3g que nas doses de 1 e 2g de extrato de chá verde. O ganho de peso dos animais que receberam 2 e 3g/d de extrato de chá verde tendeu a ser maior ($P < 0,10$) que o dos animais que receberam 1g ou o controle (zero). A inclusão de extrato de chá verde na dieta de novilhas não influenciou o consumo de matéria seca total, eficiência alimentar, as medidas corporais, comportamentais e fisiológicas, mas influenciou o consumo de concentrado e tendeu a influenciar o ganho de peso diário.

Palavras-Chave: Comportamento Ingestivo. Consumo. Extratos Vegetais. Ganho de Peso.

¹ Dissertação de Mestrado em Zootecnia- Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (55 p.) Março, 2016.

ABSTRACT

²GREEN TEA EXTRACT AS ADDITIVE FOR DAIRY HEIFERS

Author: Débora de Oliveira Strider

Advisor: Prof. Dra. Vivian Fischer

Green tea (*Camellia sinensis* L) is potentially useful as a dietary additive for domestic animals due to the polyphenols found in the leaves. The aim of this study was to evaluate the addition of green tea extract into the concentrate of dairy heifers on behavior, concentrate intake and body development. Thirty-two Holstein and Jersey dairy heifers not pregnant were selected. The experimental design was a randomized complete block design with repeated measures and four treatments: zero, 1, 2 and 3 grams of green tea extract added into the concentrate. Variants used: concentrated intake and dry matter, weight gain, body measurements, ingestion behavior along with trough and physiological dimension. The concentrated intake is higher ($P < 0,05$) in doses zero and 3g than in doses with 1 and 2 g of green tea extract. The weight gain of the subjects that received 2 and 3 g/d of green tea extract tended to be higher ($P < 0,10$) than those that received 1 g or the control sample (zero). The inclusion of green tea extract in the diet of heifers didn't affect the ingestion of total dry matter, nurture efficiency nor the bodily, behavioural and the physiological measurements, but it did influence the concentrated intake and trended to sway the daily weight gain.

Keywords: Vegetal Extracts. Ingestive Behavior. Intake. Weight Gain.

² Master of Science dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (55 p.) March, 2016.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	8
1. INTRODUÇÃO GERAL	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Polifenóis	10
2.2 Chá Verde (<i>Camellia sinensis</i> L.)	11
3. HIPÓTESE E OBJETIVO	17
CAPÍTULO II	18
Extrato de Chá Verde como Aditivo para Novilhas Leiteiras	19
CAPÍTULO III	32
3.1 Considerações Finais	33
3.2 Referências	34
3.3 Apêndice	44
3.4 Vita	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização e composição bromatológica da pastagem nativa melhorada disponível nos meses de setembro a dezembro	22
Tabela 2 - Valores da probabilidade dos efeitos do fornecimento de 0, 1, 2 e 3g de extrato de chá verde no concentrado de novilhas leiteiras sobre o consumo de matéria seca total e de concentrado e medidas corporais	25
Tabela 3 - Valores da probabilidade dos efeitos do fornecimento de 0, 1, 2 e 3g de extrato de chá verde no concentrado de novilhas leiteiras sobre o consumo de concentrado, ganho de peso, comportamento e atributos fisiológicos	25
Tabela 4 - Valores de consumo total e do concentrado	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química do flavonóide catequina. Adaptado de Scalbert e Williamson, (2000)	10
Figura 2 - Estrutura química dos principais flavonóides. Adaptado de Março et al., (2008)	12
Figura 3 - Estrutura química das catequinas do chá verde (<i>Camellia sinensis</i> L.). Adaptado de Lamarão et al., (2009)	12

LISTA DE ABREVIATURAS

C	Catequinas simples;
EC	Epicatequinas;
ECG	Galatoepicatequinas;
EGC	Epigalocatequinas;
EGCG	Galato epigalocatequinas;
GCG	Galocatequinas-galato;
LDL	Lipoproteína de baixa densidade.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

Na última década, os efeitos biológicos benéficos dos fitoquímicos em geral estão sendo descritos tanto pelo seguimento acadêmico quanto industrial. Em humanos, a adição de fitoquímicos na dieta visa prevenir doenças, enquanto nos animais domésticos, melhorar desempenho e bem-estar. Os resultados obtidos em ambos os segmentos, humano ou animal, são promissores.

A literatura descreve uma vasta gama de fitoquímicos, diferindo entre si química e estruturalmente, mas que apresentam ações biológicas similares. Muitos destes são utilizados diariamente pela população na forma de bebidas, chás, infusões e condimentos alimentares. Quanto aos polifenóis, a área da saúde tem promovido estudos amplos dentro do segmento epidemiológico e os resultados descritos são surpreendentes. A incidência de doenças do sistema cardíaco diminuiu e pacientes portadores de obesidade e osteoporose obtiveram melhoras constantes em seus quadros clínicos. Em animais, a maior concentração de pesquisas desenvolve-se com animais de pequeno porte e não ruminantes. Em ruminantes, estudos pioneiros desenvolveram-se in vitro, com vistas a identificar benefícios no ambiente ruminal, e os efeitos bactericidas e antimicrobianos descritos são positivos. Atualmente, são conduzidos estudos in vivo com a adição de extratos vegetais e óleos vegetais diretamente na dieta, visando outros parâmetros zootécnicos, como desenvolvimento corporal, produção leiteira e comportamento animal.

O chá verde (*Camellia sinensis* L.) é uma bebida das mais populares do mundo e a crescente preocupação com a ingestão de produtos naturais associados à manutenção ou melhoria da saúde e bem-estar vem aumentando seu uso entre humanos e mais recentemente para animais. Assim, baseando-se na preocupação crescente da sociedade com aspectos relacionados com segurança alimentar, sustentabilidade dos sistemas de produção e impactos ambientais, justifica-se estudar o uso dos polifenóis do chá verde, verificando efeitos sobre o crescimento e comportamento de novilhas leiteiras.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Polifenóis

Os fitoquímicos são metabólitos secundários de plantas, que possuem a defesa química como função primordial (MACHADO, 2009). A composição química dos fitoquímicos é passível de compor dietas humanas e animais de acordo com sua concentração na dieta e quantidade consumida (ACAMOVIC & BROOKER, 2005) e, segundo esses autores, dentre os fitoquímicos estudados, os compostos polifenólicos apresentam grande interesse científico. Polifenóis é um nome coletivo que abrange todos os compostos derivados do ácido ferúlico e do ácido cinâmico, principalmente o grupo denominado de flavonóides (HAMPTON, 1992).

Os flavonóides são classificados em catequinas simples (C), epicatequinas (EC), galatoepicatequinas (ECG), epigalocatequinas (EGC), galato epigalocatequinas (EGCG) e galocatequinas-galato (GCG) (HAMPTON, 1992). Além das catequinas, o chá verde contém compostos como cafeína, aminoácidos (TANAKA & KOUNO, 2003), metilxantinas, carboidratos, proteínas, compostos voláteis e elementos minerais (GRAHAM, 1992).

Os principais flavonóides são catequinas (Figura 1), abundantes principalmente nos chás (verde e preto).

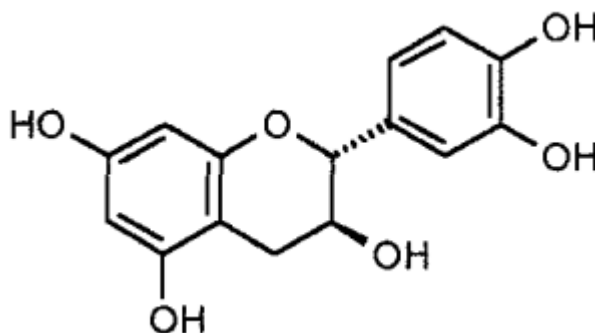


Figura 1 – Estrutura química do flavonóide Catequina.
Adaptado de Scalbert & Williamson, (2000).

Em humanos, os polifenóis tornaram-se alvo crescente entre os consumidores e indústrias em geral (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000), devido às confirmações epidemiológicas benéficas, como auxílio na prevenção de acidentes vasculares cerebrais (NESS & POWLES 1997), câncer de mama, osteoporose (ADLERCREUTZ & MAZUR 1997) e suas funções anti-inflamatórias, antialérgica, anticarcinogênica além de sua capacidade de se complexar com proteínas e polissacarídeos (macromoléculas) (ZUANAZZI, 2002). Além disso, possuem ação redutora, que associada às vitaminas C e E, e aos carotenóides, protege os tecidos do corpo contra o estresse oxidativo, prevenindo doenças de cunho cardiovascular e inflamações em geral (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000). Em animais de produção, a preocupação pública sobre a utilização de compostos sintéticos em rações com vistas a minimizar problemas de desempenho, saúde e bem-estar, estimula o interesse da pesquisa sobre o uso e os efeitos dos fitoquímicos nas dietas (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000).

A literatura atual apresenta vasta linha de pesquisa com fitoquímicos em animais não ruminantes. Seus efeitos benéficos compreendem consideráveis atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antifúngicas desde a década de 90 (BASILICO & BASILICO, (1999); CHANG et al., (2001); CAMUESCO et al., (2006); BIEGER & BLANK (2008)).

Em ruminantes, os estudos com fitoquímicos em sua maior parte, são desenvolvidos visando esclarecer os efeitos sobre o metabolismo ruminal. Efeitos anti-helmínticos, com diminuição da carga parasitária em sistemas de produção são citados por Singh et al. (2003) apud Makkar e Becker (2007), como por exemplo a melhoria do aporte de proteína decorrente do controle de parasitas gastro-intestinais (MAKKAR & BECKER, 2007). Quanto à fermentação ruminal, Broudiscou et al. (2000) relatam a redução na produção de metano e extensão no tempo de fermentação ruminal através de extratos de plantas com alto teor de flavonóides. Neste sentido, Kondo et al. (2014) corroboram parcialmente, sugerindo que o chá preto é mais eficiente para reduzir a fermentação ruminal do que o chá verde.

Os polifenóis atuam positivamente no metabolismo celular (BUSLIG & MANTHEY, 2002), e sua ação é associada à melhoria do escore corporal e redução de distúrbios metabólicos relacionados ao parto e ao processo de lactação (TEDESCO et al., 2004). Em contrapartida aos efeitos positivos na lactação (ERUDEN et al., 2003; KONDO et al., 2004), o seu uso pode impactar negativamente na digestibilidade da proteína bruta da dieta total (ERUDEN et al., 2003). Por outro lado, os parâmetros sensoriais do leite não foram afetados pelo tratamento com flavonóides, o qual aumentou a concentração de gordura no mesmo (TEKKIPE et al., 2011).

2.2 Chá verde (*Camellia sinensis* L.)

Na área da pesquisa com alimentos funcionais, o chá verde é uma planta conhecida cientificamente por *Camellia sinensis* L., e tem sido amplamente investigada devido ao seu conteúdo específico de flavonóides, que lhe confere inúmeras propriedades terapêuticas (PIETTA, 2000). Pertence à família Theaceae, é um arbusto perenifólio grande ou arvoreta de 3-4 m de altura, de copa piramidal e densa. Tem origem na Ásia, na região de Assam, Laos e Sião (LORENZI et al., 2008). Contém mais de 200 compostos bioativos e mais de 300 substâncias diferentes, dos quais 1/3 são os polifenóis (LABDAR, 2010). Um dos compostos polifenólicos encontrados no chá verde são os flavonóides, os quais podem desempenhar um papel significativo como um antioxidante natural (KARORI et al., 2007).

Os flavonóides (Figura 2) pertencem a uma subclasse de polifenóis, formados por dois anéis aromáticos contendo pelo menos um hidroxilo, delimitado por três carbonos (BEECHER, 2003). Dentre os constituintes de inúmeros extratos vegetais, os polifenóis (HARBOWY & BALENTINE, 1997) abrangem mais de 30% do peso seco total das folhas do chá verde.

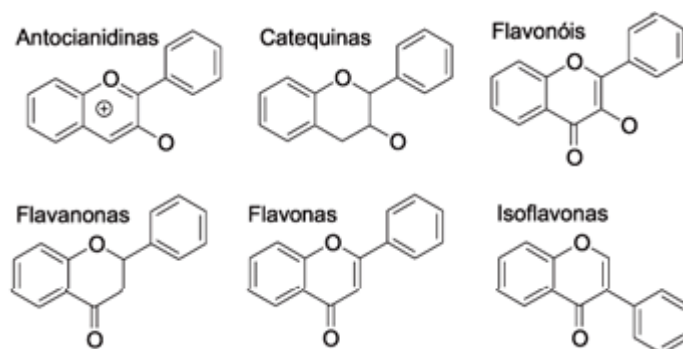


Figura 2 – Estrutura química dos principais flavonóides. Março et al., (2008).

As catequinas (Figura 3), presentes em maior quantidade no hábito de consumo do chá verde, são os polifenóis predominantes e mais significativos neste chá (GRAHAM, 1992), cerca de 26,7%, 11% são constituídos de EGCG, 10% de EGC, 2% de ECG, 2,5% de EC e 15% de polifenóis não identificados (SCHMITZ et al., 2005).

Polifenóis de baixo peso molecular, as catequinas são incolores e hidrossolúveis e conferem ao chá verde seu sabor amargo e adstringente (KAO et al., 2000; DULLOO et al., 2000).

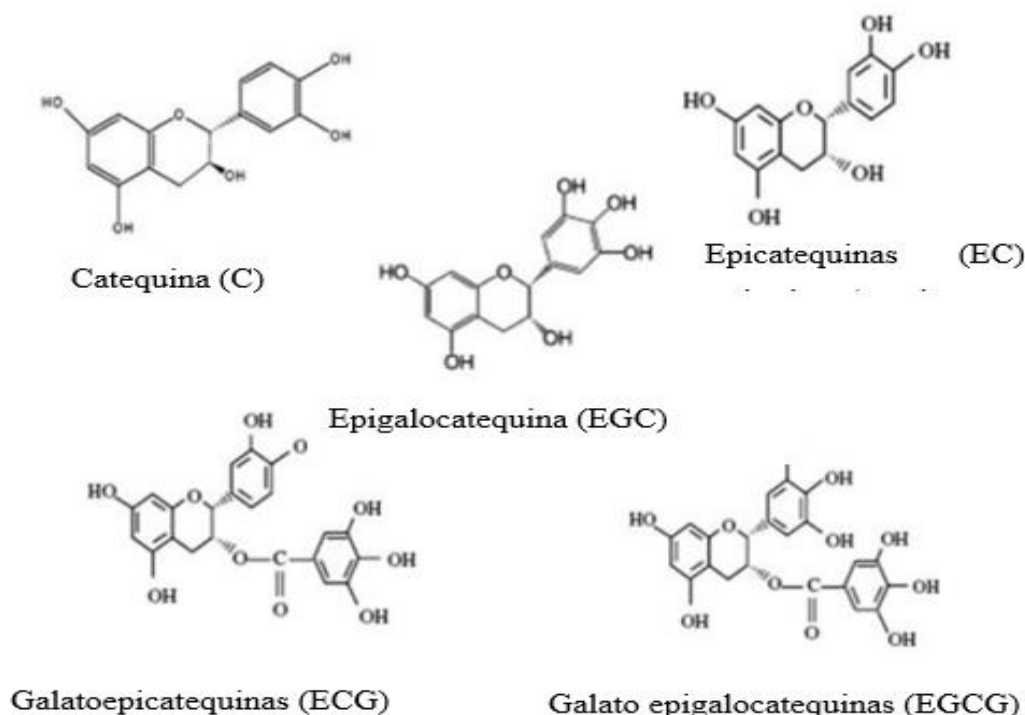


Figura 3 – Estrutura química das catequinas do chá verde (*Camellia sinensis* L.). Adaptado de Lamarão et al., (2009).

Os aminoácidos livres são responsáveis pelo frescor do chá verde (WANG et al., 1988), e contribuem na formação dos compostos voláteis, que por sua vez, responderão pelo aroma ao reagirem com catequinas e açúcares solúveis durante o aquecimento (HARA & KUBOTA, 1983). Dentre os alcalóides encontrados, a cafeína (GRAHAM, 1992) contribui para o efeito

estimulante (HARA et al., 1995), enquanto as clorofilas e a quercetina contribuem para coloração verde no chá (WANG et al., 2004).

As propriedades terapêuticas do chá verde devem-se à presença de radicais ligados aos seus anéis estruturais. A presença de grupos hidroxil na posição carbono 3 do anel C, de dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 do anel C e o número de radicais hidroxil ligados nos anéis A e B, aumentam sua atividade antioxidante (COOK; SAMMAN, 1996; ANGHILERI; THOUVENOT, 2000).

A atividade antioxidante do chá verde deve-se às catequinas, as quais previnem a citotoxicidade induzida pelo estresse oxidativo nos mais diversos tecidos, pois eliminam os radicais livres, promovem ação quelante de metais de transição tais como ferro e cobre e inibem a lipoperoxidação (RIETVELD e WISEMAN, 2003). Esse potencial de ação ocorre em ordem decrescente de eficiência: EGCG = ECG > EGC = EC (RICE-EVANS et al., 1996).

Dentre as catequinas, a epigalocatequina-3-galato (EGCG) é a mais importante e possui maior velocidade de absorção, distribuindo-se por todos os tecidos e possuindo um tempo de meia vida maior, exceto quando administrada isoladamente. Essa propriedade está relacionada com a sua complexação, a competição, a metabolização e a interação com os demais compostos do extrato do chá verde (CHEN et al., 1997).

Quanto à biodisponibilidade, um estudo desenvolvido por ZHU et al., (2000) observou as características de absorção e eliminação de mais duas catequinas além da EGCG: EC e ECG. O estudo, desenvolvido com cobaias, que receberam extrato de chá verde por via oral (5000 mg/kg) mostrou que, no plasma, a EGCG estava presente principalmente na forma livre, enquanto a EGC e a EC apareciam na forma conjugada. A conclusão desses autores foi que a baixa disponibilidade sistêmica dos compostos poderia resultar da absorção lenta, juntamente com um efeito elevado de primeira passagem no fígado e sua ampla distribuição nos tecidos periféricos. Essa baixa disponibilidade, segundo Cai et al., (2002), deve-se também a permeabilidade, o transporte ou o metabolismo das catequinas na membrana celular da região gastrointestinal.

Em humanos, a biodisponibilidade das catequinas foi avaliada por Warden et al. (2001), utilizando uma preparação contendo 15 mg de EGC, 36 mg de EC, 16mg de EGCG e 31mg de ECG. O percentual de catequinas ingeridas detectadas no plasma dos pacientes foi baixa, 1,68%, provavelmente devido à rápida metabolização e difusão pelos tecidos. Quanto à absorção, as catequinas são bem absorvidas pelo trato digestivo, pois não foram encontradas quantidades significativas nas fezes dos pacientes estudados por Lee et al., (2002). Enzimas hepáticas metabolizam as catequinas. A bioativação dos agentes procarcinogênicos e consequente ativação das catequinas é feita por meio das enzimas metabolizadoras hepáticas (SCHMITZ et al., 2005).

Quanto à estabilidade, Chen et al. (2001) observaram que as catequinas são estáveis em água à temperatura ambiente, porém, quando aquecidas a 98°C por 7 horas, apresentam degradação de 20%. Uma pesquisa desenvolvida *in vitro* com a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade

(LDL) humana, ação redutora como antioxidante férrico (FRAP) e ensaios de radicais livres com 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) demonstrou que as epicatequinas e seus epimeros apresentaram baixa biodisponibilidade, porém, a reação de epimerização que ocorre na fabricação do chá não afetou a atividade antioxidante e a biodisponibilidade dos polifenóis do chá verde (XU et al., 2004).

Em humanos, encontram-se na literatura diversos trabalhos que evidenciam os efeitos biológicos que o chá verde promove, como antiinflamatórios, antiaterogênicos, hipoglicemiantes, anticarcinogênicos e associado ao aumento da densidade mineral óssea humana (ADCOCKS et al., 2002; SUEOKA et al., 2003; NAKACHI et al., 2003; CAMPBELL, 2004, DEVINE et al., 2007). A ação anti-inflamatória deve-se à inibição de aspectos funcionais dos neutrófilos, como a liberação de enzimas lisossomais, a resposta à quimioluminescência e a produção de radicais livres (O'REILLY et al., 2000 apud SILVA et al., 2002). O controle do ganho de peso é outro efeito benéfico que o chá verde propicia. Substâncias como os flavonóides presentes neste chá possuem capacidade de atuar sobre o sistema nervoso simpático, modulando a noradrenalina, aumentando a termogênese e a oxidação das gorduras, e, evitando um aumento no tamanho e quantidade de adipócitos, prevenindo o depósito de gordura no organismo e regulando o peso corporal (LIN & LIN, 2006).

O efeito antioxidante é devido à ação inibitória de uma enzima que favorece a absorção de gordura, a lepitina (VARALDO, 2007). Cai et al. (2002b) confirmaram a atividade antioxidante do chá verde em microsomas de fígado de ratos. Os microsomas são sensíveis à lipoperoxidação devido ao alto grau de ácidos graxos poliinsaturados em sua constituição. O chá verde mostrou ser eficaz na inibição da lipoperoxidação. Já o efeito anticarcinogênico depende da biodisponibilidade das catequinas nos tecidos (YANG et al., 2000a) e esta associado à modulação da transdução de sinais que conduzem à inibição da proliferação, transformação das células e aumento da apoptose (SCHMITZ et al., 2005).

Os efeitos antiaterogênicos estão associados à prevenção da oxidação de LDL no plasma, passo importante na formação de placas de aterosclerose. Estudos de aterogênese em hamsters, comparando a capacidade de chá verde e preto, em inibir a aterosclerose demonstram que o chá verde pode diminuir a formação de placas de ateromas em 48 e 63% respectivamente (MIYAZAWA, 2000). Já o efeito deve-se ao aumento da sensibilidade à insulina que o conteúdo de polifenóis do chá promove (WU et al., 2004).

Quanto à mineralização óssea, a diferenciação osteoblástica é inibida pela hiperglicemia, alterando assim a resposta do paratormônio (PTH) que regula o metabolismo do fósforo e do cálcio (SANTANA et al., 2003). A hiperfunção das paratireóides resulta em desmineralização óssea, com conseqüente aumento da porosidade, com menor resistência às fraturas. Além disso, ocorre efeito deletério na matriz orgânica óssea, afetando a aderência, o crescimento e acúmulo de matriz extracelular (WENZEL, 1989). Estudos mostram que houve aumento da densidade mineral óssea (DMO) no osso trabecular de animais que receberam dietas com chá além de aumento da

porcentagem de osso trabecular (SHEN et al., 2009b; SHEN et al., 2010a; SHEN et al., 2011a).

Se por um lado a utilização de extratos vegetais para a espécie humana data de milhares de anos (KAMEL, 2000), em animais ruminantes, por exemplo, até o ano de 2006, havia menos de 200 trabalhos com fitoquímicos (ROCHFORD et al., 2008). Os principais efeitos pesquisados na maioria dos experimentos *in vitro* incluem o efeito antimicrobiano e antioxidante dos extratos sobre o metabolismo ruminal, explicados pela presença e constituição de seus princípios ativos (OETTING et al., 2006), acarretando uma influência positiva ao estado fisiológico e metabólico dos animais (ZHOU et al., 2004).

Quanto ao crescimento e desempenho produtivo, o chá verde vem sendo utilizado como aditivo em rações para peixes. Cho et al. (2007) observaram que juvenis de linguado (*Paralichthys olivaceus*) apresentaram níveis inferiores de colesterol LDL sanguíneo, em relação ao grupo controle, e, conseqüentemente, melhores parâmetros de desempenho produtivo ao adicionar um nível de 5% de chá às rações. E isto é atribuído à ação protetora da oxidação de LDL e regeneração alfa-tocoferol em partículas de LDL que o chá verde apresenta (ZHU et al., 1999).

Uma pesquisa desenvolvida no intuito de elucidar quanto ao efeito de dietas contendo extrato de chá verde sobre o desempenho de frangos de corte apontaram indicadores de produção positivos (pH e cor do músculo do peito) (ERENER et al., 2011). Estes autores relacionaram o desempenho positivo encontrado no estudo com os mecanismos fisiológicos, especificamente a regulamentação da microflora cecal.

Outros estudos envolvendo o chá verde no crescimento e desempenho produtivo dos animais foram desenvolvidos por Yang (2008) e Ko et al., (2008) na espécie suína; em caprinos por Kondo et al., (2007); em ovinos por Xu et al., (2008), mostrando efeitos benéficos sobre a conversão alimentar e imunidade e apresentando grande utilidade em substituições parciais ao farelo de soja e feno de alfafa.

Em suínos, Yang (2008) não observou diferenças significativas no peso corporal final, ganho de peso diário, consumo diário de ração e conversão alimentar com a suplementação de 0,1, 0,5 e 1,0% de chá verde nas dietas. Sayama et al. (2000) descrevem que o ganho de peso em ratos reduziu ao adicionar de 2,0 e 4,0% de chá verde à dieta. Já Ko et al. (2008) observaram que o ganho de peso aumentou com o incremento de 0,5% de probióticos do chá verde assim como melhorou a conversão alimentar ao comparar este tratamento com os demais, controle e subprodutos do chá verde. Quanto à composição da carne suína, Yang (2008) relata que o teor de proteína bruta aumentou significativamente em 0,1 e 1,0% ao passo que o teor de gordura bruta reduziu com 1,0% de inclusão de chá verde.

Ao desenvolver um estudo com caprinos, Kondo et al. (2007) observaram que não houve diferenças significativas na digestibilidade dos nutrientes, pH ruminal, ácidos graxos voláteis e concentração de amônia ao adicionar 5% e 10% de chá verde como substituto parcial do farelo de soja e feno de alfafa. Já Ahmed et al., (2015) sugerem que o chá verde influencia positivamente o crescimento, a qualidade da carne, metabólitos sanguíneos e a proliferação de células imunes destes animais. Da mesma forma, Xu et al.

(2008) afirmam que é possível substituir com até 10% de chá verde, dietas para ovinos contendo grãos (cevada e milho) e fenos (aveia e alfafa), obtendo decréscimos no percentual de nitrogênio amoniacal ruminal. Este estudo corrobora com Aemiro et al., (2016) que ao adicionarem um composto obtido a partir de folhas de chá verde reduziram as emissões de metano *in vivo* sem impactos negativos na digestibilidade total, energia e equilíbrio nutricional.

Sano et al. (1991) relataram que a adição de 1,0% de polifenóis do chá verde nas dietas reduziu significativamente o teor de colesterol no soro de ratos. Outro estudo evidenciou que alto teor de catequinas presentes no chá verde inibe a absorção de lipídios pelo epitélio intestinal de cobaias (IKEDA et al., 1992). Em frangos, doses de 0,5% a 1,5% de chá verde reduziram o colesterol tanto da carne como da gema de ovo (Uganbayar et al., 2005, 2006).

Atualmente, estudos sugerem que folhas de chá verde podem ter potencial para uso como aditivos naturais e/ou ingredientes na alimentação de ruminantes (RAMDANI et al. 2013; XU e WANG, 2013). Em ovinos, a carga parasitária diminui a qualidade da carne, porém, ao suplementar os animais com polifenóis do chá verde em doses de 0, 2, 4 e 6 gramas de polifenóis/kg de ração, Zhong et al. (2015) observaram diminuição dos efeitos negativos que a infestação parasitária promove sobre a digestibilidade dos nutrientes. Porém, restrições quanto ao uso do extrato de chá verde na qualidade da carne são descritos por Jongberg et al., (2015). Segundo estes autores, doses superiores a 500ppm influenciam negativamente a estabilidade estrutural e oxidativa da carne de forma linear. Já ao observar o uso dos polifenóis do chá verde no produto animal final, um estudo desenvolvido por Bañón et al. (2007) aponta a sua ação como conservantes facilitadores no aumento da vida de prateleira da carne crua, prevenindo a oxidação da carne e conseqüentemente, diminuindo o uso de sulfito de sódio.

Em bovinos leiteiros, Winkler et al. (2015) observaram que uma suplementação de polifenóis oriundos de um composto vegetal composto por chá verde e extrato de cúrcuma apresenta melhoria na produção de leite e evita cetose.

Relatos científicos sobre os efeitos dos polifenóis contidos no chá verde sobre o crescimento de animais ruminantes, principalmente bovinos leiteiros ainda são escassos na literatura.

3. HIPÓTESE E OBJETIVO

Hipótese

A inclusão de extrato de chá verde na dieta aumenta o ganho de peso e o desenvolvimento corporal de novilhas leiteiras e não apresenta efeitos deletérios sobre o consumo e comportamento ingestivo.

Objetivos

Objetivo geral

Avaliar o efeito da adição de extrato de chá verde à dieta de novilhas leiteiras sobre o desempenho.

Objetivo específico

Avaliar o comportamento ingestivo, o consumo de alimentos, ganho de peso e o desenvolvimento corporal de novilhas leiteiras, recebendo doses de extrato de chá verde na dieta e compara-las com o controle, sem aditivos.

CAPÍTULO II
EXTRATO DE CHÁ VERDE COMO ADITIVO PARA NOVILHAS LEITEIRAS³

³ Artigo a ser enviado a Animal (Cambridge, on line).

Extrato de Chá Verde como Aditivo para Novilhas Leiteiras

D.O. Strider¹, V. Fischer^{1a}, C. S. Santos¹, A. M. Gabbi¹, R. W. S. Silva²

¹*Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.*

²*Pesquisadora Embrapa Pecuária Sul, Bagé, Rio Grande do Sul, Brasil.*

Implicações

A preocupação crescente da sociedade com aspectos relacionados à segurança alimentar, sustentabilidade dos sistemas de produção e impactos ambientais aumenta a demanda por sistemas que produzam, com baixo custo e sem efeitos nocivos à saúde dos animais, produtos de origem animal. A utilização do extrato de chá verde (*Camellia sinensis* L.) nas dietas animais substitui os insumos químicos, antibióticos e ionóforos e se torna uma alternativa que atende às exigências apresentadas pela população em geral. Os efeitos biológicos do chá verde são fruto dos polifenóis encontrados nas folhas, e têm sido amplamente estudados em seres humanos e animais de laboratório e não ruminantes, porém em animais ruminantes, seus estudos ainda são relativamente limitados. Os polifenóis contidos no chá verde podem apresentar efeitos bactericidas e antimicrobianos ruminais. Existe menos informação sobre a influência destes polifenóis no consumo, comportamento ingestivo e crescimento de animais ruminantes, principalmente bovinos leiteiros.

^a*Present address: Avenue Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.*

Corresponding: Vivian Fischer. E-mail: vivinha.fischer@hotmail.com

Resumo

Foram utilizadas 32 novilhas das raças Holandesa e Jersey não gestantes. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados, com medidas repetidas no tempo e quatro tratamentos: zero, 1, 2 e 3 gramas diários de extrato de chá verde por novilha. As variáveis avaliadas foram o consumo de concentrado e de matéria seca total, o ganho de peso e medidas corporais, o comportamento de cocho e medidas fisiológicas. A inclusão de extrato de chá verde na dieta de novilhas não influenciou o consumo de matéria seca total, eficiência alimentar, medidas corporais, comportamentais e fisiológicas, mas influenciou o consumo de concentrado e tendeu a influenciar o ganho de peso diário. O consumo de concentrado foi maior ($P < 0,05$) nas doses zero e 3 g que nas doses de 1 e 2g de extrato de chá verde. O ganho de peso dos animais que receberam 2 e 3g/d de extrato de chá verde tendeu a ser maior ($P < 0,10$) que o dos animais que receberam zero ou 1g. A inclusão de extrato de chá verde na dieta de novilhas leiteiras não prejudica o consumo total, comportamento, medidas corporais, comportamentais e fisiológicas e tende a melhorar o ganho de peso.

Palavras-Chave: catequinas, comportamento ingestivo, flavonóides, ganho de peso.

Abstract

Thirty-two non pregnant heifers were used. The experimental design was a randomized complete block design with repeated measures and four treatments. The variables were the concentrate and total dry matter intake, weight gain and body measurements, behavior at the trough and physiological measures. The inclusion of green tea extract into the diet did not affect intake of total dry matter, feed efficiency, behavioral and physiological measures, but affect the intake of concentrate and tended to influence the daily body weight gain. The concentrate intake was higher ($P < 0.05$) for animals fed with the controle (zero) and 3 g than those fed with 1 and 2 g of green tea extract. The weight gain of the animals which received 2 and 3 g / d of green tea extract tended to be higher ($P < 0.10$) than that of animals receiving zero or 1 g. The inclusion of green tea extract in the diet of dairy heifers does not impair intake, ingestive behavior at the trough, body development and physiological measures and tends to improve weight gain.

Keywords: catechins, feeding behavior, flavonoids, weight gain.

Introdução

O chá verde (*Camellia sinensis L.*) apresenta potencial de uso em dietas dos animais domésticos devido à grande quantidade de polifenóis presentes em suas folhas (LABDAR, 2010). As descobertas acerca desse fitoquímico concentram-se na área da saúde humana, mas as pesquisas desenvolvidas com animais, realizadas primeiramente com cobaias (MIRZA et al., 2013), mostram resultados positivos na nutrição, sanidade e comportamento animal (ISHIHARA et al., 2001, SANTOS et al., 2015).

Em um contexto geral, extratos vegetais podem melhorar o consumo de ração, o desempenho das enzimas digestivas e reforçar a imunidade do animal (WENK, 2003), mas existem diferenças expressivas nos resultados encontrados, relacionado ao produto usado (folhas, extrato, etc), tipo de extração, dose e modo de fornecimento.

Em animais de produção ruminantes, pesquisas referentes ao metabolismo e fisiologia ruminal apontam que não houve diferenças significativas na digestibilidade dos nutrientes, pH ruminal, concentração de ácidos graxos voláteis e concentração de amônia no rúmen ao adicionar 5 a 10% de subprodutos de chá verde ensilado como substituto parcial do farelo de soja e feno de alfafa para caprinos (KONDO et al., 2007) e ovinos (XU et al., 2008), resultando em melhoria de ganho de peso. No desempenho pré e pós desmame, o chá verde apresenta potencial como aditivo na alimentação de bezerros, sendo aconselhado por Sarker et al. (2010) como fórmula substituta ao incremento de antibióticos. Um estudo desenvolvido com novilhos leiteiros, utilizando silagem de subprodutos do chá verde na dieta (NISHIDA et al., 2006) conclui que é possível acrescentar até 20% desta silagem na dieta diária sem prejuízos na fermentação ruminal. Em animais leiteiros, Kondo et al. (2004) afirmam que subprodutos do chá verde podem ser usados como fonte de proteína sem qualquer efeito prejudicial sobre o desempenho. Outros aspectos como consumo, comportamento e desenvolvimento corporal foram menos ou pouco investigados.

O objetivo deste estudo foi avaliar efeitos da adição de extrato de chá verde ao concentrado fornecido a novilhas leiteiras sobre o seu comportamento, consumo de concentrado, medidas fisiológicas e desenvolvimento corporal.

Material e Métodos

Descrição do local, animais e manejo

O experimento foi conduzido no Setor de Bovinocultura Leiteira da Embrapa Pecuária Sul, localizada na Região da Campanha do Estado do Rio Grande do Sul, no município de Bagé (latitude 31°19'53" sul, longitude 54°06'25" oeste e altitude de 212 metros), Brasil. O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, nº 18510.

O período experimental compreendeu 70 dias, de setembro a dezembro de 2014, com os primeiros 14 dias destinados à adaptação dos animais ao fornecimento de concentrado no cocho. Nos demais 56 dias os animais receberam os tratamentos dietéticos e foram realizadas as mensurações.

Os animais de cada raça foram divididos aleatoriamente em quatro grupos. A distribuição dos animais deu-se de forma aleatória entre os tratamentos, sendo que cada um foi composto de 6 animais da raça Holandês e nos, 1 e 2g foram distribuídas três novilhas da raça Jersey e no tratamento de tratamentos 0 (controle) e 3g, duas.

Foram utilizadas no experimento 32 novilhas não gestantes, 24 da raça Holandesa e 8 da raça Jersey, com idade de 14 a 15 meses e peso inicial

médio de $318,5 \pm 26,7\text{Kg}$ e $248,9 \pm 15,6\text{Kg}$ para os animais da raça Holandesa e Jersey. Os animais de cada raça foram divididos aleatoriamente em quatro grupos. A distribuição dos animais deu-se de forma aleatória entre os tratamentos, sendo que cada um foi composto de 6 animais da raça Holandês e 2 animais da raça Jersey.

Todas as novilhas receberam individualmente 0,45% do peso vivo de concentrado no cocho as 08:30 da manhã e posteriormente tiveram acesso à pastagem. Os animais foram mantidos, ao longo do experimento, em um sistema rotativo, em dois piquetes de campo natural melhorados com a introdução das espécies de azevém anual (*Lolium multiflorum*), trevos (*Trifolium spp.*) e cornichão (*Lotus corniculatus L.*), com áreas de aproximadamente 40.000m² cada. A disponibilidade diária de pasto variou entre 17,8 e 6kg de matéria seca/100kg de peso corporal.

Os grupos receberam 4 níveis de inclusão de chá verde no concentrado: tratamento controle ou sem adição de chá verde 0 (n=8); tratamento 1 - adição de 1g de chá verde no concentrado (n=8); tratamento 2 (n=8) – adição de 2g de extrato de chá verde na dieta; e tratamento 3 (n= 8) – adição de 3g de extrato de chá verde na dieta. O produto comercial utilizado foi o extrato de chá verde em pó com concentração de 56% de polifenóis. O suplemento (extrato seco de chá verde mais o concentrado), misturado no momento do arraçoamento, foi fornecido diariamente às 8h30min., em cochos individualizados.

Medidas realizadas na pastagem

A altura do dossel foi medida com régua, do nível do solo até a curvatura da folha mais alta (CARNEVALLI et al., 2001) em 150 pontos dos piquetes. A massa de forragem foi estimada pelo corte do pasto existente dentro da área delimitada por um quadrado de ferro medindo 0,5x0,5m com tesoura manual ao nível do solo, mas sem coletar a fração do mantilho. O quadrado foi lançado de maneira aleatória em 4 pontos do piquete, onde foi medida a altura do dossel com uma régua e em seguida se efetuou o corte da pastagem com uma tesoura (HODGSON et al., 2000).

Na Tabela 1 constam a altura (cm), oferta (Kg MS), pressão de pastejo (%) e a composição bromatológica das áreas disponíveis à pastagem dos animais ao longo do experimento.

Tabela 1 – Caracterização e composição bromatológica da pastagem nativa melhorada disponível nos meses de setembro a dezembro.

Itens	Período (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Caracterização								
Altura (cm)	22,05	17,51	16,88	21,50	19,22	21,65	23,73	19,33
Oferta (Kg MS)	12,288	6,700	7,748	4,768	5,112	6,745	4,889	6,208
Pressão de pastejo (%)	17	9	10	6	6	8	6	7
Análise Bromatológica (%)								
MS	89,50	86,29	85,02	85,36	83,01	84,76	82,58	86,29
CZ	10,50	13,71	14,98	14,64	16,99	15,24	17,42	13,71
Umidade	9,52	7,93	7,58	6,51	7,99	7,13	8,31	6,82
PB	8,55	8,77	10,76	14,44	12,72	7,77	14,09	7,00
FDN	47,80	57,30	59,34	58,11	57,75	60,44	53,94	57,58

MS – Matéria seca; CZ – Cinzas; PB – Proteína bruta; FDN – Fibra em detergente neutro.

As amostras foram pesadas em balança de precisão para obtenção do peso verde, levadas a uma estufa de ar quente forçado com temperatura de 60°C por 72 horas e novamente pesadas para a obtenção do peso seco das mesmas (CARNEVALLI et al., 2001). A composição bromatológica das pastagens foi analisada no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul segundo as recomendações da Association of Official Agricultural Chemist – AOAC (1990). As variáveis analisadas foram matéria seca (MS), umidade, cinzas (CZ) proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN).

Medidas realizadas nos animais

Consumo de Concentrado. Os animais foram conduzidos diariamente ao galpão, no período da manhã, ficando restritos nos cochos e receberam o concentrado de forma individual em uma razão de 0,45% do peso vivo às 8h30min.. Semanalmente a oferta do concentrado foi ajustada considerando o seu peso semanal. O consumo de concentrado ofertado foi avaliado diariamente como a diferença entre a quantidade de concentrado ofertado e a sobra, na manhã antes do fornecimento subsequente.

Consumo total de matéria seca. O consumo total de alimento foi avaliado entre os dias 46 e 58 dias após o início do experimento, através do uso de marcador externo (Cr₂O₃), fornecido na quantidade total de 10g por novilha/dia, às 8h30min e 16h30min, durante 12 dias, sendo que, nos últimos 5 dias, foi realizada coleta fecal direto no reto dos animais, nos mesmo horários do fornecimento do cromo (MORAIS et al., 2010). A partir dos dados de produção fecal, da digestibilidade *in vitro* da pastagem e do consumo de concentrado no cocho, foram calculados o consumo total e de pastagem.

Peso corporal e medidas corporais. Os animais foram pesados nos semanalmente, sem jejum prévio e pela manhã, antes do fornecimento do concentrado. O escore de condição corporal (ECC) e medidas corporais foram avaliados no início e no final dos períodos de adaptação e experimental, totalizando quatro avaliações cada. O escore corporal foi avaliado visualmente, baseado na escala de 0 a 5 pontos (de muito magra a muito gorda) conforme SAC (1976). As medidas corporais foram realizadas com animais em local plano e obtidas em centímetros (cm). Dentre as medidas corporais, o comprimento e a profundidade corporal foram obtidos utilizando fita métrica. O comprimento corporal foi avaliado como a medida em linha reta entre a articulação escápulo-umeral e a tuberosidade coxal do ílio, conforme descrito por Reis et al., (2008); a profundidade corporal como a distância entre a cernelha em sua porção mediana ao externo ou cilhadouro (atrás da ponta do cotovelo no esterno até o dorso) (MARIZ, 2010). A altura da garupa foi obtida como a distância entre o solo e a tuberosidade sacral do ílio (MARIZ, 2010), através de um hipômetro.

Medidas fisiológicas. As medidas fisiológicas pH urinário, frequência respiratória (FR) e frequência cardíaca (FC) foram avaliadas semanalmente,

após a finalização da avaliação do comportamento de cocho. O pH urinário foi avaliado através de coletas individuais de urina por meio de massagem na vulva e imediatamente medido por potenciometria (MARQUES et al., 2011). A frequência respiratória foi obtida pela contagem dos movimentos do flanco dos animais durante 30x2 segundos; a temperatura retal, por meio da utilização de termômetro clínico, introduzido na ampola retal, a 5,0 cm, em contato com a mucosa por dois minutos, até a estabilização da temperatura (FAÇANHA et al., 2011).

Comportamento de cocho. As avaliações comportamentais consistiram na observação visual focal das atividades exercidas pelos animais junto ao cocho, após o fornecimento do concentrado pelo período de 1 hora. Os animais foram observados de forma contínua. As variáveis foram correspondentes ao comportamento ingestivo (período de latência para iniciar a ingerir o concentrado, tempo sem atividade mastigatória ou ócio, ruminação e quantidade ingerida) modificações posturais e comportamento social (PANAZZOLO, 2015).

Índices de temperatura foram observados através do termômetro de bulbo, indicando médias de bulbo úmido (WBGT) de 20,6°C; temperatura do ar (TA) 22°C; temperatura do globo negro (TG) 21,9°C e 87,4% de umidade do ar.

Delineamento Experimental e Estatística

O experimento foi composto de 2 blocos (raças Holandesa e Jersey) e 4 tratamentos com 8 repetições. A distribuição dos animais dentro de cada raça foi aleatória, sendo que cada um foi composto de 6 animais da raça Holandesa e duas novilhas da raça Jersey. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com medidas repetidas no tempo e quatro tratamentos. Os atributos ganho de peso, consumo de concentrado, tempos gastos em atividades comportamentais, fisiológicas foram analisadas conforme o modelo matemático $Y_{ijkl} = m + T_i + D_j + R_k + \alpha\beta T_{Dij} + \epsilon_{ijkl}$, onde m é a média geral, T_{ij} é o efeito do i -ésimo tratamento, D_j é o efeito do j -ésimo dia, R_k é o efeito da k -ésima raça, T_{Dij} é o efeito da interação entre tratamento e dia, ϵ_{ijkl} é o efeito do erro experimental. As variáveis de desenvolvimento corporal e consumo total de matéria seca e eficiência alimentar foram analisadas conforme o modelo matemático: $Y_{ijk} = m + T_i + R_j + \epsilon_{ijk}$, onde m é a média geral, T_{ij} é o efeito do i -ésimo tratamento, R_j é o efeito da j -ésima raça, ϵ_{ijk} é o efeito do erro experimental. Foi utilizado o programa estatístico SAS (v 9.4), usando o procedimento MIXED, medidas repetidas e modelo de covariância CS. Adotou-se o nível de 0,05 de probabilidade máxima para a rejeição da hipótese de nulidade e o valor de <0,10 para tendência.

Resultados

A inclusão de extrato de chá verde na dieta de novilhas não influenciou o consumo de matéria seca total, a eficiência alimentar, as medidas corporais, comportamentais e fisiológicas, mas influenciou o consumo de

concentrado e tendeu a influenciar o ganho de peso diário (Tabelas 2, 3 e 4). O consumo de concentrado foi maior ($P < 0,05$) nas doses zero e 3g que nas doses de 1 e 2g de extrato de chá verde. O ganho de peso dos animais que receberam 2 e 3g/d de extrato de chá verde tendeu a ser maior ($P < 0,10$) que o dos animais que receberam zero ou 1 g (Tabela 3).

Tabela 2 – Valores da probabilidade dos efeitos do fornecimento de 0, 1, 2 e 3g de extrato de chá verde no concentrado novilhas leiteiras sobre o consumo de matéria seca total e de concentrado e medidas corporais.

Itens	Efeitos (P>F)		√QME
	Trat	Raça	
Consumo de matéria seca			
Total (kg/d)	0,9690	0,0002	2,29
Total (%PV)*	0,6171	0,6551	0,63
Eficiência alimentar**	0,8660	0,4158	4,34
Concentrado (kg/d)**	0,7981	0,9379	0,63
Medidas Corporais			
Altura (cm)	0,7569	0,1093	3,42
Comprimento (cm)	0,7576	0,1139	4,00
Profundidade (cm)	0,2287	0,0997	2,62
Escore (1 a 5)	0,8737	1,0	0,27

*Percentual do Peso Vivo.

**Avaliado durante as semanas de avaliação do consumo total de matéria seca.

Tabela 3 - Valores da probabilidade dos efeitos do fornecimento de 0, 1, 2 e 3g de extrato de chá verde no concentrado novilhas leiteiras sobre o consumo de concentrado, ganho de peso, comportamento e os atributos fisiológicos.

Atributos	Efeitos			T x D	Erro Padrão
	Trat	Data	Raça		
Consumo concentrado (kg/d)	0,0003	<0,0001	<0,0001	1,0	0,04
Ganho de peso (kg/d)	0,0749	0,0004	0,0016	1,0	0,11
Temperatura corporal (°C)	0,2584	0,0410	0,0005	0,6099	0,04
Frequência cardíaca (n°/min)	0,1824	<0,0001	0,3632	1,0	3,2
Frequência respiratória (mov/min)	0,4698	0,0005	<0,0001	1,0	2,3
pH urinário	0,4555	0,0093	0,1954	0,3200	0,04
Latência para ingerir (min)	0,52	0,0002	0,51	0,98	0,24
Tempo de ingestão do concentrado (min)	0,7700	<0,0001	0,63	0,85	1,0
Tempo deitado (min)	0,8000	0,0001	0,0082	0,45	4,1
Tempo ruminando (min)	0,3200	<0,0001	0,12	0,16	0,3
Tempo em ócio (min)	0,7000	<0,0001	0,34	1,0	0,7

Tabela 4 - Valores de consumo, ganho de peso, medidas corporais, fisiológicas e comportamentais de novilhas leiteiras das raças Jersey e Holandês recebendo 0, 1, 2 e 3g de extrato de chá verde no concentrado.

Itens	Doses de extrato de chá verde (g/animal/dia)			
	0	1	2	3
Consumo de matéria seca				
Total (kg/d)	12,8	12,2	12,3	12,3
Total (% PC)*	3,5	3,7	4,0	3,7
Concentrado (kg/d)	2,12 ^a	1,98 ^b	1,89 ^b	2,09 ^a
Medidas Corporais				
Altura (cm)	2,5	3,4	2,0	3,8
Comprimento (cm)	5,5	3,4	4,3	5,2
Profundidade (cm)	14,5	13,5	11,9	14,1
ECC (1 a 5)	0,6	0,5	0,6	0,5
Ganho de Peso Diário (g)	0,87 ^c	0,73 ^c	1,0 ^d	1,0 ^d
Eficiência alimentar (kg alimento/kg ganho peso)	14,6	14,6	13,1	13,4
Medidas fisiológicas				
Temperatura corporal (°C)	38,6	38,6	38,7	38,6
Frequência cardíaca (bat/min)	84,0	86,0	84,0	84,0
Frequência respiratória (mov/min)	31,0	34,5	35,0	34,9
pH urinário	8,0	8,0	8,0	8,0
Medidas comportamentais no cocho				
Latência para iniciar ingestão concentrado (min)	0	0	0	0
Tempo de ingestão (min)	22,3	21,6	21,6	21,7
Tempo de ruminação (min)	0,45	0,40	0,76	0,30
Ócio (min)	37,2	37,9	38,0	38,0
Deitada (min)	7,0	4,0	7,3	5,0

*Percentual do Peso Vivo.

a, b Valores seguidos por letras diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de F (<0,05).

c, d Valores seguidos por letras diferentes na mesma linha tendem a diferir pelo teste de F (<0,10).

Discussão

A hipótese deste estudo que a inclusão de chá verde na dieta de novilhas influencia o ganho de peso dos animais foi aceita, pois as doses 2 e 3g de extrato de chá verde tenderam a aumentar o ganho de peso. O consumo de matéria seca total foi semelhante e embora tenha havido diferença significativa de consumo de concentrado, esse não explica totalmente a diferença de ganho de peso, pois essas diferenças foram de pequena magnitude (0,10kg/dia) e não totalmente foram consistentes com as diferenças de ganho de peso. Entre as prováveis explicações, talvez as doses maiores de extrato de chá verde tenham exercido algum efeito depressor sobre a concentração de lipídeos da deposição tecidual, favorecendo o ganho de peso

(KO et al., 2008) ou ainda as doses maiores de extrato de chá verde tenham aumentado a sensibilidade à insulina (WU et al., 2004). Por outro lado, a tendência de maior ganho de peso diário com a dose de 2 e 3g do extrato utilizado, poderia ser devido à melhor eficiência do metabolismo, uma vez que o chá verde, devido à seus compostos secundários, pode apresentar ação semelhante dos ionóforos no sistema ruminal, entretanto a eficiência alimentar não variou entre os animais recebendo as diferentes doses de extrato de chá verde. Todavia o consumo total foi medido durante a última semana do experimento, quando não foi observado diferença de ganho de peso ou de consumo concentrado.

Um estudo desenvolvido por Kondo et al. (2004), utilizando vacas em lactação com oferta de ração mista total incluindo extrato de chá verde nas doses de 0, 2,5 e 5,0% com base na matéria seca (MS) corrobora parcialmente com o presente estudo, pois não se observou diferença significativa entre os tratamentos para o consumo total de matéria seca. Satoh et al. (2002) trabalharam com cobaias no período de 8 semanas e observaram redução no ganho de peso dos animais alimentados com a dieta contendo extrato de chá verde disponível comercialmente na concentração de 5% após 2 semanas de administração do extrato, não mencionando o consumo total de MS dos animais. A evolução negativa observada por estes autores não corrobora com os resultados encontrados por Cho et al. (2007) e com o presente estudo, onde os animais aumentaram de peso semanalmente. Todavia seus efeitos reduzindo obesidade foram relatados com camundongos (MIRZA et al., 2013).

Os animais deste estudo receberam as doses de extrato de chá verde oralmente misturado ao concentrado e não houve demora em ingerir o concentrado contendo o extrato, demonstrando não haver efeito negativo sobre a aceitabilidade deste. No presente estudo, não houve diferenças significativas quanto à ingestão total de alimentos, que provavelmente resultou em consumo similar de nutrientes. O consumo semelhante da dieta total e a boa aceitação do extrato de chá verde possivelmente explicam a ausência de diferenças no comportamento ingestivo quanto aos tempos de ingestão, ruminação e ócio.

Apesar do aporte de quantidades de cafeína e outras substâncias estimulantes, os atributos fisiológicos como frequência cardio-respiratória não diferiram entre os animais consumindo diferentes doses de extrato de chá verde. Por outro lado, Mirza et al (2013) observaram efeitos ansiolíticos com camundongos. Talvez a dosagem usada no presente estudo tenha sido insuficiente para modificar esses atributos.

Um dos principais compostos da *Camellia sinensis* L. são as catequinas (SCHMITZ et al., 2005), compostos incolores, hidrossolúveis e que dão o amargor e a adstringência do chá verde (BALENTINE et al., 1997). De acordo com Provenza et al. (2003), os animais são geralmente atraídos por cheiro doce e alimentos ricos em açúcares e energia, porém, evitam os de gosto amargo, adstringente e de gosto picante. Considerando-se que bovinos de leite também são muito sensíveis às mudanças de sabor (VIEIRA, 2010), modificação do sabor/odor da dieta pela adição de chá verde poderia causar relutância do animal em consumir dieta contendo chá verde e reduzir a sua ingestão, o que não foi observado no presente trabalho.

Conclusão

A inclusão de extrato de chá verde na dieta de novilhas leiteiras não altera o consumo total de matéria seca, comportamento, medidas corporais, comportamentais e fisiológicas, mas modifica o consumo de concentrado e tende a melhorar o ganho de peso.

Referências

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST. **Official methods of analysis**. 12. ed. Washington, D.C., 1975.
- BALENTINE, D. A.; WISEMAN, S .A.; BOUWENS, L. C. M. The chemistry of tea flavonoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 37, n. 8, p. 693-704, 1997.
- BAÑÓN, S., et al. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. **Meat Science**, Barking, v. 77, p. 626-633, 2007.
- CAMPOS, O. F.; LIZIEIRE, R. S. **Criação de bezerras em rebanhos leiteiros**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005.
- CARNEVALLI, R. A., et al. Desempenho de ovinos e respostas de pastagens de Tifton 85 (*Cynodon spp.*) sob lotação contínua. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, n. 58, n. 1, p. 7-15, 2001.
- CHO, S. H., et al. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Fish Physiology Biochemistry**, Dordrecht, v. 33, p. 49–57, 2007.
- ERENER, G., et al. Growth Performance, Meat Quality and Caecal Coliform Bacteria Count of Broiler Chicks Fed Diet with Green Tea Extract. **Asian-Australasian Journal Animam Science**, Seoul, v. 24, n. 8, p.1128-1135. 2011.
- FAÇANHA, D. A. E., et al. Respostas comportamentais e fisiológicas de bezerros leiteiros criados, em diferentes tipos de instalações e dietas líquidas. **Acta Veterinária Brasílica**, Mossoró, n. 5, p. 250-257, 2011.
- HODGSON, J.; MATTHEW, C.; HARRINGTON, K. C. Pasture measurement. In: HODGSON, J.; WHITE, J. (Ed.). **New Zealand: pasture and crop science**, Auckland, New Zeland: Oxford, 2000. p. 59-66.
- ISHIHARA, N., et al. Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. **Livestock Production Science**, Amestram, v. 68, n. 2, p. 217-229, 2001.
- JONGBERG, S., et al. Green Tea extract impairs meat emulsion properties by disturbing protein disulfide cross-linking. Original Research Article. **Meat Science**, Barking, v.100, p. 2-9, 2015.

KONDO, M., et al. Ensiled Green Tea Waste as Partial Replacement for Soybean Meal and Alfalfa Hay in Lactating Cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 17, n. 7, p. 960-966, 2004.

KONDO, M.; KITA, K.; YOKOTA, H. Ensiled or oven-dried green tea by-product as protein feedstuffs: effects of tannin on nutritive value in goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, Seoul, v. 20, n. 6, p. 880–886, 2007.

KONDO, M., et al. Assessment of Anti-nutritive Activity of Tannins in Tea By-products Based on In vitro Rumen Fermentation. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 27, n. 11, p. 1571-1576, 2014.

LABDAR S. **Green tea-healthy or unhealthy?** [2015]. Disponível em: <<http://bookdealer.freeyellow.com/bb48green-tea.htm.2010>>. Acesso em: 11 mar. 2015.

MACHADO, R. C. M. **Interação inseto-planta e suas implicações no manejo integrado de pragas**. 2009, 58p. Monografia (Especialização) – Tecnologias Inovadoras no Manejo Integrado de Pragas e Doenças de Plantas, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, 2009.

MARIZ, T. M. A. **Caracterização zoométrica, estrutura populacional e índices reprodutivos da raça Sindi no Brasil**. Areia: UFPB/CCA, 2010.

MIRZA, B., et al. Neurochemical and behavioral effects of green tea (*Camellia sinensis*): A model study. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Washington, v. 26, n. 3, p. 511–516, 2013.

MORAIS, J. A. S., et al. Diferentes procedimentos na determinação de indicadores internos para estimativa de produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca em bovinos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 213-218, 2010.

NISHIDA, T., et al. Effects of Green Tea (*Camellia sinensis*) Waste Silage and Polyethylene Glycol on Ruminant Fermentation and Blood Components in Cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v.19, n. 12, p. 1728-1736, 2006.

PANAZZOLO, D. M.; FISCHER, V. **Inclusão de extrato de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta e o comportamento ingestivo e social de novilhas**. 2015. xi, 84 f. : il. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

PROVENZA, F. D., et al. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, n. 19, p. 257-274, 2003.

REIS, G. L., et al. Predição do peso vivo a partir de medidas corporais em animais mestiços Holandês/Gir. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38 n. 3, maio/jun. 2008.

SAC – SCOTTISH AGRICULTURAL COLLEGE. **Condition scoring in dairy cows**. 1976. 4 p. (Advisory leaflet, 100).

SAS INSTITUTE INC. **Sas system for windows**. North Carolina: NCSU, 1999. v. 9, n. 4.

SAKER, M. S. K., et al. Effect of Different Feed Additives on Growth Performance and Blood Profiles of Korean Hanwoo Calves. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 23, n. 1, p. 52-60, 2010.

SATOH, K., et al. Inhibition of aromatase activity by green tea extract catechins and their endocrinological effects of oral administration in rats. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, n. 40, p. 925–933, 2002.

SANTOS, C. S. **Comportamento ingestivo e social de novilhas leiteiras suplementadas com extrato de chá verde (Camellia sinensis L.)**. 2015. 74 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

SILVA, R. R., et al. Efeito da utilização de três intervalos de observações sobre a precisão dos resultados obtidos no estudo do comportamento ingestivo de vacas leiteiras em pastejo. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 2, p. 319-326, 2008.

VIEIRA, S. L. **Consumo e preferência alimentar dos animais domésticos**. Londrina: Phytobiotics Brasil, 2010. 315 p.

WENK, C. Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, n. 16, p. 282-289, 2003.

YANG, C. J.; KO, S. Y. Effect of green tea probiotics on the growth performance, meat quality and immune response in finishing pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 21, n. 9, p. 1339–1347, 2008.

CAPÍTULO III

3.1 Considerações Finais

Devido ao tema tratado nesta dissertação compor um pequeno, mas promissor cenário de pesquisa em ruminantes leiteiros, sugerimos outros trabalhos na linha de pesquisa com extrato de chá verde que investiguem o potencial dos diferentes derivados deste (folhas secas, verdes ou subprodutos) e seus efeitos ruminais, de aspectos bioquímicos e microbianos não abordados neste estudo.

Esta pesquisa se desenvolveu em um curto período de tempo de avaliação das novilhas recebendo as doses de extrato de chá verde. Sugerimos que, por se tratar de animais de produção de grande porte, que comumente apresentam maior dificuldade de homogeneidade de raça, idade e peso, devido ao maior intervalo entre gerações, as pesquisas se desenvolvam com períodos de tempo superiores a três meses de duração, permitindo um número maior de avaliações bem como variáveis analisadas.

Devido à preocupação com possíveis prejuízos de ordem fisiológica aos animais, a estratégia para estabelecer as doses por tratamento foram extremamente convencionais, não superando 3 gramas diárias por animal por dia. Logo, ainda é necessário estabelecer o limiar máximo de utilização em gramas diárias por animal.

3.2 Referências

- ACAMOVIC T.; BROOKER, J. D. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **Proceedings of the Nutrition Society**, London, n. 64, p. 403-412, 2005.
- ADCOCKS, C.; COLLIN, P.; BUTLLE, D.J. Catechins from green tea (*Camellia sinensis*) inhibit bovine and human cartilage proteoglycan and type II collagen degradation in vitro. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, n. 132, p. 341-6, 2002.
- ADLERCREUTZ, H.; MAZUR, W. **Phyto-oestrogens and western diseases. Annals of Medicine**, Helsink, n. 29, p. 95-120, 1997.
- AEMIRO, A., et al. The effect of Sunphenon 30S-O on methane emission, nutrient intake, digestibility and rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 214, n.1, p. 34–43, 2016.
- AHMED, S. T., et al. Effects of supplementation with green tea by-product on growth performance, meat quality, blood metabolites and immune cell proliferation in goats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlim, v. 99, n. 6, p. 1127–1137, 2015.
- ANGHILERI, L. J.; THOUVENOT, P. Natural polyphenolsiron interaction: its biological importance. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 73, p. 251-258, mar. 2000.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST. **Official methods of analysis**. 12. ed. Washington, D.C., 1975.
- BALENTINE, D. A.; WISEMAN, S. A.; BOUWENS, L. C. M. The chemistry of tea flavonoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 37, n. 8, p. 693-704, 1997.
- BAÑÓN, S., et al. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. **Meat Science**, Barking, v. 77, p. 626-633, 2007.
- BASILICO, M. Z.; BASILICO, J. C. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. **Lett. Journal of Applied Microbiology**, London, n. 29, p. 238–241, 1999.
- BEECHER, G. R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, n. 133, p. 3248S–3254S, 2003.
- BIEGER, J.; CERMAK, R.; BLANK, R. Tissue distribution of quercetin in pigs after long-term dietary supplementation. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, n. 138, p. 1417–1420, 2008.

BROUDISCOU, L. P.; PAPON; BROUDISCOU, A. F. Effects of dry extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, n. 87, p. 263–277, 2000.

BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. **Flavonoids in cell function**. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002. 209 p.

CAI, Y. J.; ANAVY, N. D.; CHOW, H. H. Contribution of presystemic hepatic extraction to the low oral bioavailability of green tea catechins in rats. **Drug Metabolism and Disposition**, Baltimore, v. 30, p. 1246-1249, nov. 2002a.

CAI, Y. J., et al. Antioxidant effects of green tea polyphenols on free radical initiated peroxidation of rat liver microsomes. **Chemistry and Physics of Lipids**, Limerick, v.120, p.109-117, aug. 2002b.

CAMUESCO, D.; COMALADA, M.; CONCHA, A. Intestinal antiinflammatory activity of combined quercitrin and dietary olive oil supplemented with fish oil, rich in EPA and DHA (n-3) polyunsaturated fatty acids, in rats with DSS-induced colitis. **Clinical Nutrition**, Edinburgo, n. 25, p. 466–476, 2006.

CAMPBELL, A. P. Time for tea? **Diabetes Self Management**, [Long Island City], v. 21, p.8-12, 2004.

CAMPOS, O. F.; LIZIEIRE, R. S. **Criação de bezerras em rebanhos leiteiros**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005.

CARNEVALLI, R. A., et al. Desempenho de ovinos e respostas de pastagens de Tifton 85 (*Cynodon spp.*) sob lotação contínua. **Scientia Agricola**, Piracicaba, n. 58, n. 1, p. 7-15, 2001.

CHANG, S. T.; CHEN, P. F.; CHANG, S. C. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. **Journal of Ethnopharmacology**, Lousanne, n. 77, p. 123–127, 2001.

CHEN, L., et al. Absorption, distribution, and elimination of tea polyphenols in rats. **Drug Metabolism and Disposition**, Baltimore, v. 25, n.9, jun. 1997.

CHEN, Z., et al. Degradation of green tea catechins in tea drinks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p. 477-482, jan. 2001.

CHO, S. H., et al. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 33, p. 49–57, 2007.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 7, n.2, p. 66-76, sep. 1996.

DEVINE, A., et al. Tea drinking is associated with benefits on bone density in older women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Baltimore, v. 86, p. 1243-1247, 2007.

DUFRESNE, S. J.; FARNWORTH, E. R. A review of latest research findings on the health promotion of tea. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 12, p. 404-421, 2001.

DULLOO, A. G., et al. Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, London, n. 24, n. 2, p. 252-258, 2000.

ERENER, G., et al. Growth Performance, Meat Quality and Caecal Coliform Bacteria Count of Broiler Chicks Fed Diet with Green Tea Extract. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, Seoul, v. 24, n. 8, p.1128-1135, 2011.

ERUDEN, B., et al. Effects of green tea grounds silage on digestibility, rumen fermentation and blood components in lactating dairy cows. **Nihon Chikusan Gakkaiho**, Tokio, n. 74, p. 483-490, 2003.

FAÇANHA, D. A. E., et al. Respostas comportamentais e fisiológicas de bezerros leiteiros criados, em diferentes tipos de instalações e dietas líquidas. **Acta Veterinária Brasileira**, Mossoró, v. 5, p. 250-257, 2011.

GABBI, A. M. **Aditivo fitogênico na alimentação de novilhas leiteiras da Raça Jersey**: parâmetros zootécnicos, hematológicos e comportamentais. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, BR-RS, 2004.

GRAHAM, H. N. Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. **Preventive Medicine**, New York, n. 21, p. 334-350, 1992.

HAMPTON, M. E. Production of black tea. In: WILLSON, K. C.; CLIFFORD, M. N. (Eds.). **Tea cultivation to consumption**. London: Chapman & Hall, 1992. p. 459-510.

HARA, T.; KUBOTA, E. Volatile compounds formed on roasting catechine with L-theanine. **Study of Tea**, Tokyo, v. 64, p. 32- 33, 1983.

HARA, Y. Chemical composition of tea. **Food Reviews International**, New York, v. 11, p. 435-456, 1995.

HARRIS, W. S. N-3 fatty acids and lipoproteins-comparison of results from human and animal studies. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 16, p. 415-480, 1997.

HODGSON, J., MATTHEW, C., HARRINGTON, K.C. Pasture measurement. In: HODGSON, J.; WHITE, J.; (Ed.). **New Zealand: pasture and crop science**, Auckland, New Zeland: OXFORD, p. 59-66, 2000.

IKEDA, I.; ISMASATO, Y.; SASAKI, E. Tea catchins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, Amsterdam, n. 1127, p. 142-146, 1992.

ISHIHARA, N., et al. Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 68, n. 2, p. 217-229, 2001.

JONGBERG, S., et al. Green Tea extract impairs meat emulsion properties by disturbing protein disulfide cross-linking. Original Research Article. **Meat Science**, Barking, v.100, p. 2-9, 2015.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. **Feed Mix – The International Journal on Feed, Nutrition and Technology**, [Doentinchem], v. 9, n. 6, p. 19-24, 2000. (Special number).

KAO, Y. H.; HIIPAKKA, R. A.; LIAO, S. Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. **Endocrinology**, Baltimore, n.141, p. 980–987, 2000.

KONDO, M., et al. Ensiled green tea waste as partial replacement for soybean meal and alfalfa hay in lactating cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, n. 17, p. 960-966, 2004.

KONDO, M.; KITA, K.; YOKOTA, H. Ensiled or Oven-dried Green Tea By-product as Protein Feedstuffs: Effects of Tannin on Nutritive Value in Goats. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 20, n. 6, p. 880–886, 2007.

KONDO, M., et al. Assessment of Anti-nutritive Activity of Tannins in Tea By-products Based on In vitroRumen Fermentation. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 27(11), p. 1571-1576, 2014.

KO, S. Y., et al. Comparison of the Effect of Green Tea By-product and Green Tea Probiotics on the Growth Performance, Meat Quality, and Immune Response of Finishing Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 21, n. 10, p. 1486-1494, 2008.

LAMARÃO, R. C.; FIALHO, E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. **Revista de Nutrição**, Campinas, n. 22, n. 2, p. 257-269, mar./abr. 2009.

LEE, M. J., et al. Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (-)-epigallocatechin-3-gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v. 11, n. 10, p. 1025-1032, oct. 2002.

LIN, J. K.; LIN-SHIAU, S. Y. Mechanisms of hypolipidemic and anti-obesity effects of tea and tea polyphenols. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, n. 50, p. 211-217, 2006.

LABDAR, S. 2010. **Green tea-healthy or unhealthy?** [2015]. Disponível em: <<http://bookdealer.freeyellow.com/bb48green-tea.htm.2010>>. Acesso em: 11 mar. 2015.

MACHADO, R. C. M. **Interação inseto-planta e suas implicações no manejo integrado de pragas**. 2009, 58p. Monografia (Especialização) – Tecnologias Inovadoras no Manejo Integrados de Pragas e Doenças de Plantas, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, 2009.

MAKKAR, H. P. S.; FRANCIS, G.; BECKER, K. Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. **Animal**, Cambridge, n. 1, p. 1371-1391, 2007.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

MARIZ, T. M. A. **Caracterização zoométrica, estrutura populacional e índices reprodutivos da raça Sindi no Brasil**. Areia: UFPB/CCA, 2010.

MARQUES, L. T.; et al. Milk yield, milk composition and biochemical blood profile of lactating cows supplemented with anionic salt. **Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, v.40, p.1088-1094, 2011.

MIYAZAWA, T. Absorption, metabolism and antioxidative effects of tea catechin in humans. **BioFactors**, Oxford, n. 13, p. 55-59, 2000.

MIRZA, B., et al. Neurochemical and behavioral effects of green tea (*Camellia sinensis*): A model study. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Washington, v. 26, n. 3, p. 511–516, 2013.

MORAIS, J. A. S., et al. Diferentes procedimentos na determinação de indicadores internos para estimativa de produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca em bovinos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 213-218, 2010.

NAKACHI, K.; EGUCHI, H.; IMAI, K. Can teatime increase one's lifetime? **Ageing Research Reviews**, Oxford, n. 2, p. 1-10, 2003.

NESS, A. R.; POWLES, J. W. Fruit and vegetables and cardiovascular disease: a review. **International Journal of Epidemiology**, London, n. 26, p. 1-13, 1997.

NISHIDA, T., et al. Effects of Green Tea (*Camellia sinensis*) Waste Silage and Polyethylene Glycol on Ruminal Fermentation and Blood Components in Cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v.19, n. 12, p. 1728-1736, 2006.

OETTING, L. L., et al. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1389-1397, 2006.

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

PROVENZA, F. D., et al. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 19, p. 257-274, 2003.

RAMDANI, D.; CHAUDHRY, A. S.; SEAL, C. J. Chemical Composition, Plant Secondary Metabolites, and Minerals of Green and black teas and the effect of different tea-to-water ratios during their extraction on the composition of their spent leaves as potential additives for ruminants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 61, n. 20, p. 4961–4967, 2013.

REIS, G. L., et al. Predição do peso vivo a partir de medidas corporais em animais mestiços Holandês/Gir. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, may/jun. 2008.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 20, p. 933-956, 1996.

RIETVELD, A.; WISEMAN, S. Antioxidant effects of tea: evidence from human clinical trials. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, n. 133, p. 3275-3284, 2003.

ROCHFORD, S.; PARKER, A. J.; DUNSHEA, F. R. Plant bioactives for ruminant health and productivity. **Phytochemistry**, New York, v. 69, p. 299-322, 2008.

RODRIGUES, Hosana Gomes et al. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 315-320, 2003. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/19056>>. Acesso em: 2 mar. 2015.

SAC – SCOTTISH AGRICULTURAL COLLEGE. **Condition scoring in dairy cows**. [S. l., 1976]. p. 4 (Advisory leaflet, 100).

SANTANA, R. B., et al. A role for advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 diabetes. **Diabetes**, New York, v. 52, p.1502–1510, 2003.

SANO, M. Y., et al. Antioxidative activities of green tea and black tea in rat organ, blood plasma. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TEA SCIENCE**, 1991, Shizuoka, Japan. Proceedings of the... Shizuoka, Japan, 1991. p. 156.

SANTOS, C. S. **Comportamento ingestivo e social de novilhas leiteiras suplementadas com extrato de chá verde (Camellia sinensis L.)**. 2015. 74p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

SAKER, M. S. K., et al. Effect of Different Feed Additives on Growth Performance and Blood Profiles of Korean Hanwoo Calves. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 23, n. 1, p. 52-60, 2010.

SAS INSTITUTE INC. **Sas System for Windows**. North Carolina: NCSU, 1999. v 9, p. 4.

SATOH, K., et al. Inhibition of aromatase activity by green tea extract catechins and their endocrinological effects of oral administration in rats. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, n. 40, p. 925–933, 2002.

SAYAMA, K., et al. Effect of green tea on growth, food utilization and lipid metabolism in mice. **In vivo**, [Atens], n. 14, p. 481-484, jul./aug. 2000.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, n. 130, p. 2073S–2085S, 2000.

SHEN, C. L., et al. Supplementation with green tea polyphenols improves bone microstructure and quality in aged, orchidectomized rats. **Calcified Tissue International**, New York, v. 88, n. 6, p. 455–463, 2011.

SHEN, C. L., et al. Green tea polyphenols attenuate deterioration of bone microarchitecture in female rats with systemic chronic inflammation. **Osteoporosis International**, London, v. 22, n. 1, p. 327–337, 2010a.

SHEN, C. L., et al. Green tea polyphenols mitigate deterioration of bone microarchitecture in middle-aged female rats. **Bone**, Elmsford, v. 44, n. 4, p. 684–690, 2009b.

SCHMITZ, W.; SAITO, A. Y.; ESTEVÃO, D.; SARIDAKIS, H. O. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, n. 26, p. 119-130, 2005.

SILVA, R. R., et al. Efeito de flavonóides no metabolismo do ácido araquidônico. **Revista de Medicina**, Ribeirão Preto, n. 35, p. 127-133, 2002.

SILVA, R. R., et al. Efeito da utilização de três intervalos de observações sobre a precisão dos resultados obtidos no estudo do comportamento ingestivo de vacas leiteiras em pastejo. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 2, p. 319-326, 2008.

SUEOKA, N., et al. A new function of green tea: prevention of lifestyle-related diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, n. 928, p. 274-280, 2003.

TANAKA, T.; KOUNO, I. Oxidation of tea catechins: chemical structures and reaction mechanism. **Food Science and Technology Research**, Tsukuba, v. 9, n. 2, p. 128-133, 2003.

TEDESCO, D., et al. Effects of Silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, n. 87, p. 2239-2247, 2004.

TEKIPPE, J. A., et al. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, n. 94, p. 5065–5079, 2011.

UUGANBAYAR, D. I. H., et al. Effects of green tea powder on laying performance and egg quality in laying hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, n. 18, p. 1769-1774, 2005.

UUGANBAYAR, D. I. S.; SHIN; YANG, C. J. Comparative performance of hens fed diets containing Korean, Japanese and Chinese green tea. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, n. 19, p. 1190-1196, 2006.

VARALDO, C. Chá verde e outros compostos naturais podem de fato prevenir e tratar o câncer, o coração e o fígado. Rio de Janeiro, 2007. **Grupo otimismo de apoio a portadores de hepatite C**.

VIEIRA, S. L. **Consumo e preferência alimentar dos animais domésticos**. Londrina: Phytobiotics Brasil, 2010. 315 p.

WARDEN, B. A., et al. Catechins are bioavailable in men and women drinking black teathroughout the day. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 131, p. 1731–1737, mar. 2001.

WANG, Y.; PROVAN, G. J.; HELLIWELL, K. Discussion on the chemical standards on quality of Chinese roasted green tea. **Journal of Tea Science**, Hangzhou, v. 8, p. 13-20, 1988.

WANG, L., et al. The compounds contributing to the greenness of green tea. **Journal of Food Science**, Chicago, n. 69, p. 301–305, 2004.

WENK, C. Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, n. 16, p. 282-289, 2003.

WENZEL, A. Effect of manual compared with reference point superimposition on image quality in digital subtraction radiography. **Dentomaxillofacial Radiology**, Oxford, v. 18, p. 145–150, 1989.

WINKLER, A., et al. Effects of a plant product consisting of green tea and curcuma extract on milk production and the expression of hepatic genes involved in endoplasmic stress response and inflammation in dairy cows. **Archives of Animal Nutrition**, Bethesda, v. 69, n. 6, p.425-441, 2015.

WU, L. Y.; JUAN, C. C.; HO, L. T. Effect of green tea supplementation on insulin sensitivity in Sprague-Dawley rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 643-648, 2004.

XU, J. Z., et al. Comparison of antioxidant activity and bioavailability of tea epicatechins with their epimers. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 91, n. 6, p. 873-881, jun. 2004.

XU, C., et al. The effect of replacing brewers grains with barley tea grounds in total mixed ration silage on feed intake, digestibility and ruminal fermentation in wethers. **Animal Science Journal**, Tokio, v. 4, p. 575–581, 2008.

XU, C; WANG, H. Utilization of tea grounds as feedstuff for ruminant. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 4, n. 1, p. 54, 2013.

YANG, C. J.; KO, S. Y. Effect of green tea probiotics on the growth performance, meat quality and immune response in finishing pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 21, n. 9, p. 1339–1347, 2008.

YANG, C. S.; PRABHU, S.; LANDAU, J. Prevention of carcinogenesis by tea polyphenols. **Drug Metabolism Reviews**, Baltimore, v. 33, p. 237-253, 2000a.

ZHOU, S., et al. Herbal bioactivation: The good, the bad and the ugly. **Life Science**, Boca Raton, v. 74, n. 8, p. 935-968, 2004.

ZHONG, R. Z., et al. Effect of dietary supplementation with green tea polyphenols on digestion and meat quality in lambs infected with *Haemonchus contortus*. **Meat Science**, Barking, v. 105, p. 1-7, 2015.

ZHU, M.; CHEN, Y.; LI, R. C. Oral absorption and bioavailability of tea catechins. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 66, p. 444-447, jun. 2000.

ZHU, Q. Y.; HUANG, Y.; Tsang, D. Regeneration of alpha-tocopherol in human low – density lipoprotein by green tea catechin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.47, p. 2020-2025, 1999.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, M. O. et al. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Florianópolis: UFSC, 2002. cap. 23, p. 499-526.

3.3 Apêndice

Animal
An International Journal of Animal Bioscience
Instructions for authors
Last updated November 2013
Recommendations for preparation of papers

The responsibility for the preparation of a paper in a form suitable for publication lies in the first place with the author. Authors should consult a free issue or a free article of *animal*, available at <http://journals.cambridge.org/anmsample>, in order to make themselves broadly familiar with the layout and style of *animal*. The English must be acceptable for publication. If the English is not good enough, editors may ask for a linguistic revision by a third-party service at any stage of the review process and at the author's cost. The copyeditor will check and correct minor grammatical errors and journal styles in the accepted manuscripts, but he will not perform language editing. A variety of third-party services specialising in language editing and/or translation can be found here: <http://journals.cambridge.org/action/stream?pageId=8728&level=2&menu=Authors&pageId=3608>. Manuscripts should be prepared using a standard word processing program, presented in a clear, readable format with easily identified sections and headings and typed with double-line spacing with wide margins (2.5 cm). The use of small paragraphs with less than 8 lines must be minimised. The lines must be continuously numbered (on left side); the pages must also be numbered. Font Arial 12 should be used for the text, and Arial 11 for tables and references, in order to easily evaluate manuscript length. The typographical and other conventions to be adopted are set out below. A style sheet is available on our website in order to help the authors to organise their manuscript and to comply with *animal* style format. Manuscripts which do not follow the below mentioned conventions will be sent back to the author.

Title

A title needs to be concise and informative. It should:

- (a) arrest the attention of a potential reader scanning a journal or a list of titles;
- (b) provide sufficient information to allow the reader to judge the relevance of a paper to his/her interests and whether it will repay the effort of obtaining a copy;
- (c) incorporate keywords or phrases that can be used in indexing and information retrieval, especially the animal species on which the experiment has been carried out;
- (d) avoid inessentials such as 'A detailed study of ...', or 'Contribution to ...';
- (e) not include the name of the country or of the region where the experiment took place;
- (f) be shorter than 170 characters including spaces.

Authors and affiliation

The names and affiliations of the authors should be presented as follows:

J. Smith^{1,a}, P.E. Jones², J.M. Garcia^{1,3} and P.K. Martin Jr²

¹Department of Animal Nutrition, Scottish Agricultural College, West Main Road, Edinburgh EH9 3JG, UK

²Animal Science Department, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695-7621, USA

³Laboratorio de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, C. Miguel Servet, 177, 50013, Zaragoza, Spain

^a Present address: Dairy Science Laboratory, AgResearch, Private Bag 11008, Palmerston North, New Zealand (for any author of the list whose present address differs from that at which the work was done)

Corresponding author: John Smith. E-mail: John.Smith@univ.co.uk

The corresponding author indicated in the manuscript who will be the correspondent for a published paper can be different from the corresponding author who submits and manages the manuscript during the review process; the latter corresponding author will need to be registered on Editorial Manager.

Running head

Authors should propose a running head of no more than 50 characters. If the proposed running head is not appropriate, it could be modified by the Editorial Office, with the author's agreement.

Abstract

Every paper should have a one-paragraph abstract of not more than 400 words which is complete and understandable without reference to the paper. It should state succinctly the problem, the experimental methods, results and conclusions but should not be overburdened by numerical values or probability values. References to tables and figures, and undefined abbreviations are not acceptable.

Keywords

Up to a maximum of five keywords selected from CAB Thesaurus (1995) or from an equivalent volume should be selected. Keywords are essential in information retrieval and should be indicative of the content of the paper (animal species, etc.). If the proposed keywords are not appropriate, the manuscript will be returned to the authors. The use of non-standard abbreviations in the list of keywords is discouraged.

Implications

Authors must write maximum 100 words explaining the implications of their work. Implications explain the expected importance or economic, environmental and/or social impact. This must be in simple English suitable for non science readers. This section is mandatory and will be peer-reviewed.

Introduction

The Introduction should briefly present the current issues that the authors are addressing while outlining the context of the work, ensuring that the objectives are clearly defined, and that the main features of the experiment or of the work are clear to the reader. Increasing the knowledge on a subject is not an

objective per se. References in the Introduction should be limited as it should not be a preliminary discussion or a literature review.

Material and methods

Material and Methods should be described in sufficient detail within this section, so that it is possible for others to repeat the experiment. If the methods are numerous, authors should refer to one of their previous publications in which they are described in detail. If a proprietary product is used as a source of material in experimental comparisons, this should be described using the appropriate chemical name. If the trade name is helpful to the readers, provide it in parentheses after the first mention. Authors who have worked with proprietary products, including equipment, should ensure that the manufacturers or suppliers of these products have no objections to publication if the products, for the purpose of experimentation, were not used according to the manufacturer's instructions.

Results - Discussion

They can be presented together (Results and Discussion) or in 2 different sections (Results followed by Discussion). Conventions for presenting these sections or the Materials and Methods section (subheadings, etc.) are presented later in this document.

Statistical treatment of results

A statistical guide for authors is available on the website at http://www.animaljournal.eu/statistical_instructions.htm. The methods and models of statistical analysis must be indicated and sufficient statistical details given to allow replication of the experiment. Where reference is made to statistical significance, the level of significance attained should normally be indicated by using the following conventional standard abbreviations (which need not be defined): $P > 0.05$ for nonsignificance and $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$ for significance at these levels. In tables, levels of significance should be indicated by *, ** and *** respectively. Statistical significance (e.g. $P = 0.07$) can also be used in the text or tables. Treatment means should normally be given without their standard deviation (i.e. variability in a sample or a population). An indicator of the precision of the measure such as the pooled standard error, the residual standard deviation (RSD) or the root mean square error (RMSE) should be given for each criteria/item/variable/trait in an additional column (or line). Differences between treatments (or comparison of mean values) will be indicated using the following conventional standard: a, b for $P < 0.05$; A, B for $P < 0.01$; in most cases, the 0.05 level is sufficient.

Tables

These should be as simple and as few as possible. The same material should not normally be presented in tabular and graphical form. When both forms are possible, authors should present tables. Generally, variables are in rows and treatments in columns. In designing tables, authors should refer to the page size and column widths of animal as guidance. Each table should be typed, preferably in double spacing, on a page separate from the main body of the text

(one table per page) and an indication given in the text where it should be inserted. Tables which are created in Word should not use tabs but should use the table function within the programme. Tables should not be prepared with vertical lines between columns and horizontal lines between rows of data. Tables should be given Arabic numbering and each should have its own explanatory title, footnotes and definitions of abbreviations which are sufficient to permit the table to be understood without reference to the text ("Effect of fat source and animal breed on carcass composition in pigs" is preferred to "Carcass composition"). The title should not contain too many details about the protocol, the definition of abbreviations, etc. Such details are preferred as footnotes. All tables must be cited consecutively in the text. Column headings should be concise and units should be clearly stated using standard abbreviations; any non-standard abbreviation should be defined. Only the first letter of the first word is in capitals. Sub-items describing the data in the rows should be indented relative to crossheadings; where they involve printing on more than one line, they should be indented in the second and subsequent lines. Sub-sub-items should also be indented. Footnotes should be used sparingly and kept brief. They must provide the bases for statistics (levels of significance, statistical model, etc.). The reference symbols used in footnotes are numbers in low cases. The values in the tables should be given with meaningful decimals; practically, the last digit should correspond to about one tenth of the standard error. The number of decimals for mean treatment values and the corresponding indicator of residual variability (RSD, SEM, RMSE, etc.) should be consistent in all the tables, either identical or one more for the variability indicator, but not both possibilities. Values such as efficiencies or digestibilities are preferred as percentages.

Figures

It is recommended that the width of any diagram submitted should be either 175 mm (2 columns) or 83 mm (1 column) including the legend at the side(s). In choosing ornaments, solid symbols should be used before open symbols, and continuous lines before dotted or dashed lines. The size of symbols should be appropriate (neither too small nor too big and clumsy). The use of colour in figures should be avoided, unless it is essential to understanding the figure. Figures are then usually supplied as black and white and as one file per figure. Colour figures are reproduced at no cost to the author for the online version. But the authors are liable to cover the additional costs for printing figures in colour. Publication charges can be found at http://www.animal-journal.eu/documents/Reprints_cost.pdf. All figures must be numbered consecutively in the text. Captions for all figures should be typed on a separate page at the end of the manuscript and should be sufficiently detailed to allow the figure to be understood without reference to the text; figures are submitted without their captions. An indication of where a figure should appear should be given within the text. Diagrams and plates are referred to within the text as Figure 1, etc., and the captions begin with Figure 1, etc. For details of submission requirements, refer to section on 'Submission and evaluation of the manuscript'.

Acknowledgements

In this section, the authors may acknowledge (briefly) their support staff, their funding sources, their credits to companies or copyrighted material, etc. All papers with a potential conflict of interest must include a description/explanation under the Acknowledgements heading.

References

It is the author's responsibility to ensure that all references are correct. The references should adhere to the guidelines, be relevant to the text content and they should all be cited in the text. The maximum number of references is 10 for short communications, 35 for original articles and 50 for review papers, except when the editor agrees a higher number. No more than 3 references can be given for the same statement (except for reviews and meta-analyses). Authors should minimise the number of references to conference proceedings, reports, PhD theses, and other references which cannot easily be obtained by the reader. The accuracy of the references is the responsibility of the authors. Authors should carefully check authors' surnames and first names, article title, journal title, volume and page numbers, book publisher's information, proceedings exact description. Literature cited should be listed in alphabetical order of authors and references should not be numbered. For a same first author, the rank of references will be i) publications with one author ranked by year; ii) publications with two authors ranked by year; iii) publications with more than two authors ranked by year then, if necessary, by alphabetical order of the second author.

Typical references are:

Journal article or abstract:

Format: Author(s) surname and Initials Year. Title. Full title of the journal volume, pages. The issue within the volume is not mentioned, except if the numbering is per issue and not per volume (ex: newspapers). The word 'abstract' if applicable is not mentioned. Titles which cannot be written in Latin characters will be translated in English, followed by (in xxx) where xxx is the original language.

Examples:

Martin C, Morgavi DP and Doreau M 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal* 4, 351-365.

Morgavi DP, Martin C, Jouany JP and Ranilla MJ 2012. Rumen protozoa and methanogenesis: not a simple cause-effect relationship. *British Journal of Nutrition* 107, 388-397.

When the article is online but not yet printed, the right format is:

Zamaratskaia G and Squires EJ. Biochemical, nutritional and genetic effects on boar taint in entire male pigs. *Animal*, doi:10.1017/S1751731108003674, Published online by Cambridge University Press 17 December 2008.

Book:

Format: Author(s) or editor(s) surname and Initials, or institution Year. Title, number of volumes if more than 1, edition if applicable. Name of publisher, place of publication (i.e. city, state (if applicable) and country).

Example: Association of Official Analytical Chemists 2004. Official methods of analysis, 2 vol., 18th edition. AOAC, Arlington, VA, USA.

Book chapter or edited conference proceedings:

Format: Author(s) surname and Initials Year. Title. In Title of the book or of the proceedings (eds followed by the editor(s)), volume number when applicable, pages. Name of publisher, place of publication (i.e. city, state (if applicable) and country).

For edited proceedings, it is not necessary to mention the date and place of the symposium.

Example: Nozière P and Hoch T 2006. Modelling fluxes of volatile fatty acids from rumen to portal blood. In Nutrient digestion and utilization in farm animals (eds E Kebreab, J Dijkstra, A Bannink, WJJ Gerrits and J France), pp. 40–47. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Report at an event (conference, meeting, etc) not included in a book or edited proceedings:

Format: Author(s) surname and Initials Year. Title. Nature of the event, date of the event (i.e. day month year), place of the event (i.e. city, state (if applicable) and country), pages or poster/article number (if applicable).

Examples: Martuzzi F, Summer A, Malacarne M and Mariani P 2001. Main protein fractions and fatty acids composition of mare milk: some nutritional remarks with reference to woman and cow milk. Paper presented at the 52nd Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Budapest, 26-29 August 2001, Budapest, Hungary.

Bispo E, Franco D, Monserrat L, González L, Pérez N and Moreno T 2007. Economic considerations of cull dairy cows fattened for a special market. In Proceedings of 53rd International Congress of Meat Science and Technology, 5-10 August 2007, Beijing, China, pp. 581–582.

Thesis:

Format: Author surname and Initials Year. Title. Type of thesis, University with English name, location of the University (i.e. city, state (if applicable) and country).

Example: Vlaeminck B 2006. Milk odd- and branched-chain fatty acids: indicators of rumen digestion for optimisation of dairy cattle feeding. Thesis PhD, Ghent University, Ghent, Belgium.

Website addresses can be used when no other reference is available. They should be presented as for standard references but, in addition, they should include the date when the document was retrieved:

Bryant P 1999. Biodiversity and Conservation. Retrieved on 4 October 1999, from <http://darwin.bio.uci.edu/~sustain/bio65/Titlepage.htm>

Citation of references

In the text, references with three or more authors should be cited on all occasions with the first author followed by et al. (in italics; e.g. Smith et al.). References with two authors should be cited in full on all occasions. Names of organizations used as authors (e.g. Agricultural and Food Research Council) should be written out in full in the list of references and on first mention in the text. Subsequent mentions may be abbreviated (e.g. AFRC). Ampersands (&) are not to be used. Multiple references should be as follows: Wright et al., 1993 and 1994; Wright et al., 1993a and 1993b. When several references are cited simultaneously, they should be ranked by chronological order (e.g. Smith et al., 1995; Fabre et al., 1996; Schmidt et al., 1998; Fabre et al., 1999). 'Personal communication' or 'unpublished results' should follow the name of the author in the text where appropriate. The author's initials but not his title should be included, and such citations are not needed in the reference list. Check that all of the references in the text are in the list of references and vice versa. Bibliographic database softwares can be used. The output styles for Endnote, Procite and Reference Manager may be found on the journal website http://animal-journal.eu/instructions_to_authors.htm.

Supplementary material

Authors can include supplementary material in any type of text (full research paper, review paper, short communication, etc.). Supplementary material will appear only in the electronic version, and is not limited in length. It will be peer-reviewed along with the rest of the manuscript, but will not be copyedited. Authors are entirely responsible for its content and must check carefully the format and styles. This supplementary material could contain original modus operandi, tables or figures which are not necessary for understanding the text within the main body of the paper, mathematical models, references of publications which are used, for example, in a meta-analysis and which do not appear in the text, or pictures improving the understanding of the text. The manuscript must stand alone without the supplementary material for those readers who will be reading the hard copy only. This should be submitted with the main manuscript in a separate file and identified as "Supplementary File – for Online Publication Only". Each figure should have its own title embedded in the figure (below). Supplementary material should be identified and mentioned in the main text as Supplementary Table S1, Supplementary Table S2, etc. for tables or Supplementary Figure S1, Supplementary Figure S2, etc. for figures or Supplementary Material S1, Supplementary Material S2, etc. for other material). For example: "The list of references used for the meta-analysis is given in Supplementary Material S1". A link to this on-line supplementary material will be included by the Production Editor at the proof preparation stage.

Typographical conventions and consistencies

Headings

As illustrated and detailed above and in the style sheet (see website), the animal convention is as follows.

(a) Title of the paper is in bold with only the first letter in capitals. Authors' names are in lower case with initial capitals and their addresses are in italics.

(b) Main section headings (Abstract, Introduction, Implications, Material and methods, Results, Discussion, Acknowledgement(s), References) are printed in bold throughout and placed by the left margin.

(c) Subheadings are italicized and only the initial letter is in capitals. The two classes are:

(i) side italics unpunctuated (shoulder headings);

(ii) italics, punctuated and text run-on (side headings).

The sequence is always (i) to (ii).

Abbreviations

When abbreviations are defined in the text, they should be written in bold capitals at first occurrence. The abbreviations listed below do not require the full spelling.

ACTH Adrenocorticotrophic hormone

ADF Acid detergent fibre

ADL Acid detergent lignin

ADP Adenosine diphosphate

ANOVA Analysis of variance

ATP Adenosine triphosphate

BLUP Best linear unbiased prediction

BW Body weight

CoA Coenzyme A

CP Crude protein

DNA Deoxyribonucleic acid

ELISA Enzyme-linked immunosorbent assay

FSH Follicle-stimulating hormone

GLC Gas-liquid chromatography

GLM General Linear Model

HPLC High performance (pressure) liquid chromatography

IGF Insulin-like growth factor

IR Infrared

LH Luteinising hormone

MS Mass spectrometry

n Number of samples

NAD Nicotinamide adenine dinucleotide

NADP Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NADPH₂ Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NDF Neutral detergent fibre

NIRS Near infrared spectrophotometry

PAGE Polyacrylamide gel electrophoresis

PCR Polymerase chain reaction

PMSG Pregnant mare's serum gonadotropin

RNA Ribonucleic acid

SDS Sodium dodecyl sulfate

UV Ultraviolet

The names of the chemicals do not need to be written out in full; chemical symbols are sufficient. Fatty acids are abbreviated using the following rules: cis-18:1 for the sum of cis octadecenoic acids. When isomers are described, the double bond positions are identified by numbering from the carboxylic acid end: c9,t11-18:2; iso-15:0. The terms “omega 3” and “omega 6” are banned and replaced by “n-3” and “n-6”, e.g. 18:3n-3. Trivial names can be used for the most known fatty acids (myristic, palmitic, oleic, linoleic, linolenic) and abbreviations in some cases: CLA for conjugated linoleic acids, EPA for eicosapentaenoic acid, DHA for docosahexaenoic acid. Chemical names and trivial names cannot be mixed in a same table.

Capitals

- (a) Initial capitals are used for proper nouns, for adjectives formed from proper names, for generic names and for names of classes, orders and families.
- (b) Names of diseases are not normally capitalized.

Italics

Use italics for:

- (a) titles of books and names of periodicals in the text;
- (b) authors' addresses;
- (c) subheadings (see above);
- (d) titles for tables (but not captions for figures);
- (e) most foreign words, especially Latin words, e.g. ad hoc, ad libitum, et al., in situ, inter alia, inter se, in vitro, per se, post mortem, post partum but no italics for c.f., corpus luteum, e.g., etc., i.e., N.B., via;
- (f) mathematical unknowns and constants;
- (g) generic and specific names;
- (h) letters or numbers in the text which refer to corresponding letters or numbers in an illustration;
- (i) letters used as symbols for genes or alleles e.g. HbA, Tf D (but not chromosomes or phenotypes of blood groups, transferrins or haemoglobins, e.g. HbAA, TfDD);
- (j) first occurrence of a special term;
- (k) repeated emphasis of a special term (use cautiously);
- (l) Latin names of muscles (but not of bones), e.g. m. biceps femoris.

Spelling

All papers must be written in English. Spelling may be in British or American English but must be consistent throughout the paper. Please refer to standard dictionaries e.g. Webster's, Collins, Concise Oxford for the correct spelling of words and to Fowler's Modern English Usage (3rd edition, edited by R.W. Burchfield, Oxford University Press) for usage. Care should be exercised in the use of agricultural terminology that is ill-defined or of local familiarity only.

Numerals

- (a) In text, use words for numbers zero to nine and figures for higher numbers. In a series of two or more numbers, use figures throughout irrespective of their magnitude.

- (b) Sentences should not, however, begin with figures.
- (c) For values less than unity, 0 should be inserted before the decimal point.
- (d) For large numbers in the text substitute 10ⁿ for part of a number (e.g. 1.6 10⁶ for 1 600 000).
- (e) To facilitate the reading of long numbers in tables, the digits should be grouped in three about the decimal sign but no point or comma should be used.
- (f) The multiplication sign between numbers should be a cross (x).
- (g) Division of one number by another should be indicated as follows: 136/273.
- (h) Use figures whenever a number is followed by a standard unit of measurement (e.g. 100 g, 6 days, 4th week).
- (i) Use figures for dates, page numbers, class designations, fractions, expressions of time, e.g. 1 January 2007; type 2.
- (j) Dates should be given with the month written out in full in the text and with the day in figures (i.e. 12 January not 12th January). Single non-calendar years should be written 2006/07; periods of two calendar years as 2006-07.
- (k) For time use 24-h clock, e.g. 0905 h, 1320 h.

Units of measurement

The International System of Units (SI) should be used. A list of units is found for example at <http://physics.nist.gov/cuu/Units/units.html>. Recommendations for conversions and nomenclature appeared in Proceedings of the Nutrition Society, 31: 239-247, 1972. Some frequently used units which are not in the SI system are accepted: l for litre, ha for hectare, eV for electron-volt, Ci for curie. Day, week, month and year are not abbreviated. A product of two units should be represented as N·m and a quotient as N/m (e.g. g/kg and not g.kg⁻¹), except in case of two quotients (e.g. g/kg per day and not g/kg/day).

Concentration or composition

Composition expressed as mass per unit mass or mass per unit volume should have as denominator the unit of mass, the kilogram, or the unit of volume, the litre. Values should thus be expressed as nanograms, micrograms, milligrams or grams per kilogram or per litre. The term content should not be used for concentration or proportion.

Statistical terms

chi square χ^2
 coefficient of determination R^2
 coefficient of variation CV
 correlation
 multiple R
 sample coefficient r
 degrees of freedom d.f.
 expectation of mean square e.m.s.
 least significant difference LSD
 mean square m.s.
 non-significant $P > 0.05$
 probability P
 $P < 0.05$, in tables use *

P<0.01, in tables use **
P<0.001, in tables use ***
regression coefficient b
root mean square error r.m.s.e.
standard deviation s.d.
standard error of difference s.e.d.
standard error of mean s.e.m.
standard error of estimate $S_{y.x}$
residual standard deviation r.s.d.
variance ratio F

3.4 Vita

Débora de Oliveira Strider, filha de Claudete de Oliveira Strider, brasileira nascida em São Lourenço do Sul, Rio Grande do Sul, no dia 25 de dezembro de 1986.

Realizou o ensino fundamental na Escola Estadual de Ensino Fundamental Cruzeiro do Sul e o Ensino Médio no Instituto Estadual de Educação Dr. Walter Thofehrn, ambos no município de São Lourenço do Sul – RS.

No ano de 2007 concluiu o curso Técnico em Agropecuária, na Escola Técnica Estadual Santa Isabel – ETESI, localizada em Santa Isabel, 5º subdistrito do município de São Lourenço do Sul – RS.

No ano 2008/1 iniciou a graduação em Zootecnia na Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA, Campus Dom Pedrito, Dom Pedrito – RS, concluindo em 2012/2.

Realizou o estágio final do curso de Zootecnia na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Gado de Leite, na área de Laboratório de Análise de Alimentos/Nutrição Animal.

Concluiu, no ano de 2014, a Especialização em Produção Animal, com área de concentração em Produção de Ruminantes, na Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, Campus Dom Pedrito.

Em abril de 2014 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós – Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.