

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM  
DIETAS DE BOVINOS**

Autora: Sabrina Marcantonio Coneglian  
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

## **USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM DIETAS DE BOVINOS**

Autora: Sabrina Marcantonio Coneglian  
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

“Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de **DOUTOR EM ZOOTECNIA**, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.”

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
2009

**TU ÉS FIEL**  
**(Eyshila)**

“ Sei que estás aqui Senhor  
Podes perceber quem sou  
Podes ver se há em mim  
Um verdadeiro adorador

A minha oferta eu  
Ofereço a Ti, Deus meu  
Pra reconhecer que nada eu tenho  
Tudo é Teu

Quero Te adorar,  
Ainda que a figueira não floreça  
Quero me alegrar  
Mesmo se o dinheiro me faltar

A vitória vem  
Mesmo que pareça que é o fim  
**Pois Tu és Fiel Senhor,**  
**Fiel a mim**

E ainda que eu não mereça  
Permaneces assim  
Fiel Senhor meu Deus,  
Fiel a mim “

Aos meus pais,

**Sidney Coneglian e Ieda Aparecida Marcantonio Coneglian**

Pelo amor incondicional, incentivo, apoio nas horas difíceis e principalmente por serem meu alicerce.

Às minhas irmãs,

**Samanta Marcantonio Coneglian e Mariana Marcantonio Coneglian**

Pelo amor, amizade sincera, companheirismo e lealdade.

Ao meu avô,

**Renato Fortunato Marcantonio (*in memoriam*)**

Pelo exemplo de honestidade, integridade e dignidade.

*"A sua ausência nos causa profunda tristeza, mas lembrar as alegrias que você gerou entre nós é como se você aqui estivesse presente."*

**DEDICO...**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela vida, por tudo que tenho e que sou. Com certeza tudo o que eu fizer ainda será pouco pra retribuir tudo o que eu ganhei de Ti Senhor.

Aos meus pais Sidney Coneglian e Ieda Aparecida Marcantonio Coneglian pela união de nossa família, pelos bons princípios que me ensinaram, pelos esforços financeiros e pelo amor infinito.

Às minhas irmãs Samanta Marcantonio Coneglian e Mariana Marcantonio Coneglian pela amizade, lealdade, por serem meu maior tesouro.

Aos meus familiares, em especial, minha avó Ruth Nogueira, pela confiança depositada em mim, torcida e oração.

Ao Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco, pelos 8 anos de orientação, pela paciência, pelos conhecimentos repassados e pelos conselhos sinceros.

À Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação e Fazenda Experimental de Iguatemi, por viabilizarem a realização deste projeto, além de me darem a oportunidade de chegar a mais esta titulação.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa Oligobasics, pela ajuda financeira na execução deste projeto.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pelos conhecimentos repassados e dedicação.

Aos funcionários, Cleuza Volpato, Creuza Azevedo, José Trintin, Augusto e Vilson Marssola, pela ajuda na realização do experimento e boa vontade.

Aos amigos de grupo de trabalho: Roman David Castañeda Serrano, Lorryny Galoro da Silva, Cláudia Mara de Lázzari, Beatriz da Silva Lima, Daniel Suzigan Mano, Fernanda Granzotto, Julio Cesar Barreto e Jenifer Sifuentes pelo apoio e ajuda na realização do experimento.

À amiga Meiby Carneiro de Paula e ao Professor Elias Nunes Martins pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao querido amigo Roman David Castañeda Serrano, pela extraordinária pessoa, pela amizade verdadeira, companheirismo incondicional e apoio em todos os momentos.

Aos amigos mais que especiais e de todas as horas: Fernanda Fereli, Maria Fernanda Queiroz Soares, Lina Maria Peñuela Sierra, Maribel Velandia, Lorryny Galoro da Silva, Cláudia Mara de Lázzari, Beatriz da Silva Lima, Kleber Guen Uehara, Lúcio Kavata, Darci Fornari, Tatiane Cristina Albuquerque Alves, Marcos de Araújo Rodovalho, João Júnior e Mariana Sanomyia.

E a todos que me ajudaram na realização de mais esse sonho!!!!

## **BIOGRAFIA**

SABRINA MARCANTONIO CONEGLIAN, filha de Sidney Coneglian e Ieda Aparecida Marcantonio Coneglian, nasceu em Santo André – São Paulo, no dia 16 de julho de 1981. No ano de 1999, iniciou o Curso de Graduação em Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá – UEM, no campus da cidade de Maringá – Paraná. Em dezembro de 2003, cumpriu as exigências para obtenção do título de “Zootecnista” pela mesma universidade. Em 2004, iniciou-se no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, sendo que no dia 05 de fevereiro de 2006 obteve o título de Mestre em Produção Animal. No ano de 2006 foi selecionada para cursar créditos junto ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, em nível de Doutorado, área de concentração Produção Animal, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes. Em fevereiro de 2009, submeteu-se à banca examinadora para a defesa da Tese de Doutorado.

## ÍNDICE

<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	viii
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	ix
<b>RESUMO.....</b>	11
<b>ABSTRACT.....</b>	13
<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	15
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	26
<b>OBJETIVOS GERAIS.....</b>	29
<b>CAPÍTULO I - USO DE MONENSINA E DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS .....</b>	
<b>Resumo.....</b>	30
<b>Abstract.....</b>	31
Introdução.....	32
Material e Métodos.....	34
Resultados e Discussão.....	42
Conclusões.....	60
Referências Bibliográficas.....	61
<b>CAPÍTULO II – USO DE DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM DIETAS DE ALTO VOLUMOSO DE BOVINOS.....</b>	
<b>Resumo.....</b>	67
<b>Abstract.....</b>	68
Introdução.....	69
Material e Métodos.....	71
Resultados e Discussão.....	76
Conclusões.....	93
Referências Bibliográficas.....	94
<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	101

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPÍTULO I - USO DE MONENSINA E DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS</b> .....	30
Tabela 1 -Composição química e percentual dos alimentos e dietas experimentais (%MS).....	35
Tabela 2 - Médias, equações de regressão, coeficientes de variação (CV) e teste de Dunnett para ingestão (ING), fluxo fecal (FF) e digestibilidade aparente total (DIG) da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta.....	43
Tabela 3 - Médias, equações de regressão, coeficientes de variação (CV) e teste de Dunnett para ingestão (ING), fluxo fecal (FF) e digestibilidade aparente total (DIG) da fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos não fibroso e nutrientes digestíveis totais.....	46
Tabela 4 – Equações de regressão ajustadas para pH e nitrogênio amoniacal (N-NH <sub>3</sub> ) em função dos tempos de coleta com (P <0,05) .....	49
Tabela 5 – Médias, coeficientes de variação e teste de Dunnett e para concentração de pH ruminal e nitrogênio amoniacal (N-NH <sub>3</sub> ) em função dos tempos de coleta.....	50
Tabela 6 – Médias, coeficientes de variação e teste de Dunnett para concentração de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácidos graxos de cadeia curta totais e a relação ác. acético/ ác. propiônico.....	53
Tabela 8 - Médias, equações de regressão, coeficientes de variação (CV), teste de Dunnett e probabilidade do contraste ortogonal para o pH da urina (pH), volume urinário (VUR), excreção diária de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic), eficiência de síntese de proteína microbiana (Efi).....	56
Tabela 9 - Médias, equações de regressão, coeficientes de variação (CV), teste de Dunnett e probabilidade do contraste ortogonal para taxa de passagem (Kp), volume ruminal (Vol) e tempo de retenção (TRet).....	59
<b>CAPÍTULO II – USO DE DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM DIETAS DE ALTO VOLUMOSO DE BOVINOS</b> .....	67
Tabela 1 - Composição química e percentual dos alimentos e dietas experimentais (%MS).....	72

Tabela 2 – Médias, equações de regressão e coeficientes de variação (CV) para ingestão (ING) e coeficiente de digestibilidade aparente total (CDAT) da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais.....	77
Tabela 3 – Equações de regressão ajustadas para pH e nitrogênio amoniacal (N-NH <sub>3</sub> ) em função dos tempos de coleta com (P <0,05).....	81
Tabela 4 – Médias e coeficientes de variação para concentração de pH ruminal e nitrogênio amoniacal (N-NH <sub>3</sub> ) em função dos tempos de coleta.....	83
Tabela 5 – Médias e coeficientes de variação para concentração de ácido acético (C2), ácido propiônico (C3), ácido butírico (C4), ácidos graxos de cadeia curta totais (AGCCT) e a relação ác. acético/ ác. propiônico (C2/C3).....	85
Tabela 6 – Variação nas concentrações de NUP para os tratamentos testados.....	87
Tabela 7 - Médias, equações de regressão e coeficientes de variação (CV) para o pH da urina (pH), volume urinário (VUR), excreção diária de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic), eficiência de síntese de proteína microbiana (Efi).....	89
Tabela 8 - Médias, equações de regressão e coeficientes de variação (CV) para taxa de passagem (Kp), volume ruminal (Vol) e tempo de retenção (TRet).....	91

## LISTA DE FIGURAS

<b>CAPÍTULO I - USO DE MONENSINA E DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS.....</b>	<b>30</b>
Figura 1 – Variação do pH ruminal durante o período de 12 horas após a primeira alimentação.....	49
Figura 2 – Variação nas concentrações de N-NH <sub>3</sub> durante o período de 8 horas após a primeira alimentação do dia.....	51
<b>CAPÍTULO II – USO DE DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM DIETAS DE ALTO VOLUMOSO DE BOVINOS.....</b>	<b>67</b>
Figura 1 – Variação do NDT nos diferentes níveis de óleos essenciais.....	82
Figura 2 – Variação do pH ruminal durante o período de 8 horas após a primeira alimentação do dia.....	83
Figura 3 – Variação nas concentrações de N-NH <sub>3</sub> durante o período de 8 horas após a primeira alimentação do dia.....	83
Figura 4– Variação nas concentrações de NUP para os tratamentos testados.....	87

## RESUMO

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o uso de diferentes aditivos e diferentes doses de óleos essenciais de mamona e cajú (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>) sobre o consumo voluntário, coeficiente de digestibilidade aparente total dos nutrientes, parâmetros ruminais, parâmetros plasmáticos, síntese de proteína microbiana e cinética ruminal em bovinos. No primeiro experimento foram utilizados cinco novilhos da raça Nelore com 270 kg ± 34 kg de peso vivo portadores de cânula ruminal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5 x 5 e os tratamentos consistiram na utilização de diferentes aditivos alimentares: 0,2 g/dia de Monensina Sódica (MON), 1 g/dia de Óleos Essenciais (OL1), 2 g/dia de Óleos Essenciais (OL2), 4 g/dia de Óleos Essenciais (OL4) e 8 g/dia de Óleos Essenciais (OL8). O consumo dos nutrientes não foi alterado ( $P>0,05$ ) pelos tratamentos. A inclusão de monensina e 2 e 4 g/dia de óleos essenciais mostrou ( $P<0,05$ ) os maiores valores de digestibilidade aparente total da MS, MO, PB, FDN, EE e NDT. Os diferentes aditivos não alteraram ( $P>0,05$ ) a produção de amônia ruminal, no entanto, o melhor nível de óleos essenciais administrado para pH ruminal foi de 3,54 g/dia. A concentração de ácido acético foi aumentada quando se administrou 1 g/dia de óleos essenciais, no entanto, a concentração de ácido propiônico, de ácido butírico e de ácidos graxos de cadeia curta totais não foi influenciada ( $P>0,05$ ) pelo fornecimento dos diferentes aditivos, assim como o nitrogênio uréico plasmático. A concentração de alantoína aumentou ( $P<0,05$ ) com a adição de monensina e óleos essenciais (2 e 4 g/dia), assim como a eficiência de síntese de proteína microbiana. Com relação à cinética ruminal, os diferentes aditivos não alteraram ( $P>0,05$ ) a taxa de diluição, volume ruminal e tempo de retenção do alimento. No segundo experimento foram utilizados quatro novilhos da raça Holandês Preto e Branco com 230 kg ± 41 kg de peso vivo portadores de cânula ruminal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4 x 4, e os tratamentos consistiram na utilização de diferentes níveis de óleos essenciais de mamona e cajú (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>): 1 g/dia de Óleos Essenciais (OL1), 2 g/dia de Óleos Essenciais (OL2), 4 g/dia de Óleos Essenciais (OL4) e 8 g/dia de Óleos Essenciais (OL8). O consumo não foi influenciado ( $P>0,05$ ) pelos tratamentos. A inclusão de diferentes níveis de óleos essenciais não mostrou diferença

( $P > 0,05$ ) na digestibilidade aparente total da MS, MO, PB, FDN, EE e CNF. O NDT apresentou um comportamento quadrático em relação aos diferentes níveis de óleos essenciais, sendo o melhor valor encontrado com o fornecimento de 3,10 g/dia de óleos essenciais. Os diferentes níveis de óleos essenciais não alteraram ( $P > 0,05$ ) o pH ruminal, amônia ruminal, a concentração de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácidos graxos de cadeia curta totais, assim como o nitrogênio uréico plasmático. Os diferentes níveis de óleos essenciais não alteraram ( $P > 0,05$ ) a síntese de proteína microbiana, a taxa de diluição, o volume urinário e o tempo de retenção do alimento. Em dietas a base de volumoso para bovinos em crescimento, utilizando o produto natural Essencial o melhor nível encontrado foi entre 3,1 g/dia. Em dietas alto grão para bovinos em crescimento, utilizando o produto natural Essencial (Oligobasics<sup>®</sup>), resultados semelhantes à monensina foram mostrados quando se administrou 4 g/dia de óleos essenciais. Em dietas a base de volumoso para bovinos em crescimento, utilizando o produto natural Essencial (Oligobasics<sup>®</sup>), o melhor nível encontrado foi 3,1 g/dia.

**Palavras chave:** aditivos, cajú, extratos de plantas, ionóforo, mamona, ruminantes

## ABSTRACT

This work was carried out to study the use of different additives and levels of castor and cashew essential oil (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>) in steers diets on voluntary intake, total apparent digestibility coefficient of nutrients, rumen and blood metabolites, microbial protein synthesis and ruminal kinetic. In the first work five Nelore steers weighing 270 kg  $\pm$  34 kg of live weight and implanted with ruminal cannula were used. The experimental design was a Latin square 5 x 5, and treatments consisted of different additives: 0.2 g/d of Sodium Monensin (MON), 1 g/d of Essential Oil (OL1), 2 g/d of Essential Oil (OL2), 4 g/d of Essential Oil (OL4) and 8 g/d of Essential Oil (OL8). Feed intake was not affected ( $P>0.05$ ) by treatments. The inclusion of sodium monensin and 2 and 4 g/d of essential oil showed higher values ( $P<0.05$ ) of total apparent digestibility of DM, OM, CP, NDF, EE and TDN. The additives did not affect ( $P<0.05$ ) the ruminal ammonia production. However, the best level of essential oil to control ruminal pH was 3.54 g/d. Acetic acid concentration was increased when administered 1 g/d of essential oil. However, propionic acid, butyric acid and total volatile fatty acid concentration were not affected ( $P>0.05$ ) by additives, as well as plasma urea nitrogen. Allantoin concentration increased ( $P<0.05$ ) for addition sodium monensin and essential oil (2 and 4 g/d), as well as microbial protein synthesis. Additives did not affect ( $P<0.05$ ) rate dilution, ruminal volume and retention time of feed. In the second work four Holstein steers weighing 230 kg  $\pm$  41 kg of live weight and implanted with rumen cannula were used. The experimental design was a Latin square 4 x 4, and treatments consisted in using of different levels of essential oil (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>): 1 g/d of Essential Oil (OL1), 2 g/d of Essential Oil (OL2), 4 g/d of Essential Oil (OL4) and 8 g/d of Essential Oil (OL8). Intake was not affected ( $P>0.05$ ) for treatments. The inclusion of essential oil did not show ( $P>0.05$ ) different values of total apparent digestibility of DM, OM, CP, NDF, EE and NFC. TDN showed a quadratic behavior and the best level of essential oil was of 3.10 g/d. The different levels of essential oil did not affect ( $P>0.05$ ) the pH, ruminal ammonia production, total fatty acid concentration, the ratio acetic acid/propionic acid and plasma urea nitrogen. Allantoin concentration did not show ( $P>0.05$ ) different values, as well as purines derivative and microbial protein synthesis.

Additives did affect ( $P>0.05$ ) rate dilution and retention time of feed. In diets high forage, using the natural product Essential the best values was when administred 3.1 g/d of essential oil.

**Key words:** additives, cashew, castor, ionophorus, plants extract, ruminants

## INTRODUÇÃO GERAL

### I. ADITIVOS NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

A alimentação corresponde 60 a 70% dos custos da produção animal, que necessita ter níveis adequados de nutrientes para explorar a melhor capacidade do animal e alcançar sua lucratividade. Para assegurar que estes nutrientes sejam ingeridos, digeridos, protegidos da destruição microbiana, absorvidos e transportados às células do organismo são incluídos na dieta certos aditivos, na sua maioria, não nutritivos, com a finalidade de um melhor balanceamento dos nutrientes do alimento.

Por causa da globalização, as exigências dos mercados consumidores ampliaram-se, visando à saúde humana, criando determinadas regras para o uso destes aditivos na alimentação animal, e anualmente estas regras mudam restringindo a utilização de alguns aditivos.

Em 1999, baseando-se no “Princípio da Precaução” a União Européia (EU) banuiu a utilização de antibióticos como promotores de crescimento (Ipharraguerre, 2003), mas a proibição do uso de ionóforos como aditivos alimentares (monensina sódica e lasalocida) somente ocorreu em 2006. Este princípio é uma prerrogativa para as autoridades da UE, mesmo na ausência de dados científicos conclusivos, adotarem uma “postura preventiva” em relação a uma determinada questão (Loyola & Paile, 2006).

Outros países, no entanto, adotam o “Princípio da Prova”, baseando-se em evidências científicas para uma tomada de decisão, como o caso dos Estados Unidos e Brasil.

Por este motivo, os compostos naturais alternativos vêm de encontro às necessidades do mercado nacional e especialmente internacional.

## 1. IONÓFOROS

Ionóforos são moléculas com uma camada externa hidrofóbica e uma interna hidrofílica onde átomos de oxigênio espaçados estrategicamente em cavidades ligam-se a diferentes cátions (como o  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{++}$ ) e atuam como transportador destes íons através da membrana celular (Russel & Strobel, 1989).

Os ionóforos, entre eles, a monensina são provavelmente os aditivos mais pesquisados em dietas de ruminantes (Schelling, 1984). Nos Estados Unidos o uso deste composto em dietas para gado de corte confinado ocorre desde 1976 e em animais em pastejo desde 1978. Atualmente, são conhecidos mais de 120 tipos de ionóforos resultantes da fermentação de vários tipos de actinomicetos, produzidos principalmente por bactérias do gênero *Streptomyces*, mas somente a monensina, lasalocida, salinomicina e laidlomocina propionato são aprovados para uso em dietas de ruminantes.

O princípio ativo monensina é comercializado nos EUA sob o rótulo de RUMENSIN<sup>®</sup>, sendo que a Elanco Química Ltda iniciou em 1987 no Brasil testes preliminares deste produto com o rótulo de RUMENSIN R.D.D.<sup>®</sup> (Oliveira et al., 1987). A monensina é um antibiótico produzido por cepas de *Streptomyces cinnamomensis*, cuja eficiência tem sido intensamente avaliada no que diz respeito a efeitos sobre os processos digestivos de ruminantes (Ensminger et al., 1990).

### 1.1. Modo de Ação

A ação dos ionóforos no rúmen ocorre pelas mudanças na população microbiana, selecionando as bactérias gram-negativas produtoras de ácido succínico ou que fermentam ácido láctico e inibindo as gram-positivas produtoras de ácidos acético, butírico, láctico e  $\text{H}_2$ .

Em função da característica de ação dos ionóforos sobre a população microbiana, os benefícios de sua ação biológica podem ser classificados em 3 áreas: 1) aumento da eficiência do metabolismo da energia das bactérias ruminais, alterando a proporção dos ácidos graxos de cadeia curta produzidos no rúmen e diminuindo a produção de metano; 2) melhoria do metabolismo do N pelas bactérias ruminais, diminuindo a absorção de amônia e aumentando a quantidade de proteína de origem alimentar que chega ao intestino delgado;

3) diminuição das desordens resultantes da fermentação anormal no rúmen, como acidose, timpanismo e coccidiose.

Os ionóforos podem atuar de duas maneiras: no metabolismo do ruminante, uma vez que é absorvido pelo trato gastrointestinal, e sobre a população microbiana do rúmen, atuando na membrana celular dos microrganismos. Por serem solúveis em membranas depois de serem combinados com íons, os ionóforos passam a fazer parte destas e desempenhar as funções de transporte de íons de um lado a outro da membrana (Machado & Madeira, 1990).

A monensina catalisa principalmente as trocas de sódio ( $\text{Na}^+$ ) por hidrogênio ( $\text{H}^+$ ), uma vez que afinidade pelo sódio é dez vezes maior que aquela por potássio ( $\text{K}^+$ ). A lasalocida tem afinidade maior pelo potássio ( $\text{K}^+$ ) em relação ao sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ ), sendo as afinidades da lasalocida por  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{++}$  semelhantes (Silva, 1990).

As reações de troca cátion/próton catalisadas pelos ionóforos irão depender do gradiente de concentração dos íons (Figura 1).

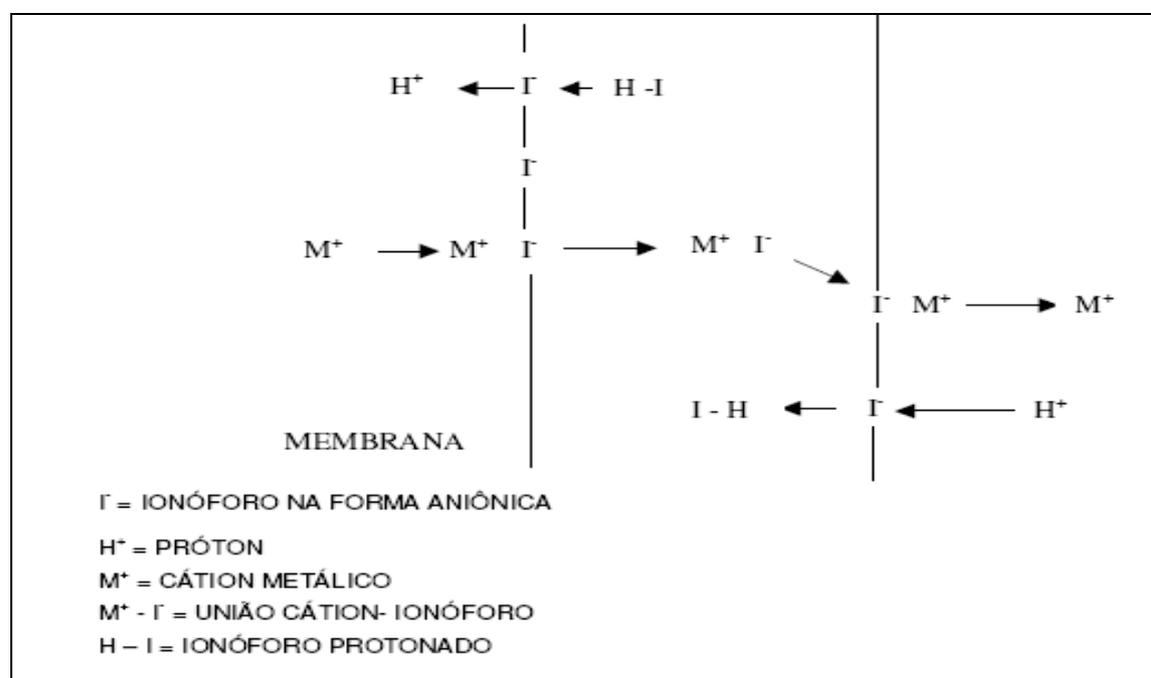


Figura 1 - Mecanismo de atuação do ionóforo no transporte de íons pela membrana celular de microrganismos (Bergen & Bates, 1984).

Estando o ionóforo confinado à interface da membrana na forma aniônica, este permanece estabilizado devido à característica polar dessa superfície. O ionóforo então se combina com um íon metálico tornando-se lipossolúvel, podendo difundir-se pelo interior da membrana. Finalmente o ionóforo atinge o lado oposto da membrana e passa a estar novamente sujeito ao ambiente polar.

As forças eletrostáticas que mantêm o complexo ionóforo/íon não são mais suficientes, e o ionóforo libera seu cátion voltando à forma aniônica. Este transporte de íons faz com que o ionóforo promova uma desorganização do gradiente de íons normalmente formado no transporte ativo das bactérias e essencial no seu metabolismo (Machado & Madeira, 1990). Desta forma as bactérias gram-positivas, por não possuírem a camada de peptidoglicanas (camada externa de revestimento) que normalmente protegem as gram-negativas contra “agentes agressores externos” são mais afetadas pelos ionóforos que desorganizam o transporte de cátions através das membranas destas bactérias e promovem um maior gasto energético a fim de manter o balanço osmótico entre o interior e o exterior da célula (Bergen & Bates, 1984).

Como as bactérias gram-positivas produzem menos ATP por mol de glicose fermentada, por não apresentarem a fosforilação oxidativa, estas acabam esgotadas energeticamente por uma exaustão total do ATP intracelular, já que o nível de energia da célula foi severamente diminuído, uma vez que a célula não poderia gerar ATP suficiente para atender suas demandas biológicas e regenerar o pH (Silva, 1990).

Mudanças no pH também foram detectadas por Russel & Strobel (1989), trabalhando com *Streptococcus bovis*. Trata-se de uma bactéria gram-positiva, em que a adição de monensina causou a inversão no gradiente de pH através da membrana da célula tornando o seu interior ligeiramente ácido modificando o potencial da membrana. O gasto de ATP para regenerar o pH modificado pela monensina pode ser explicado pela Figura 2.

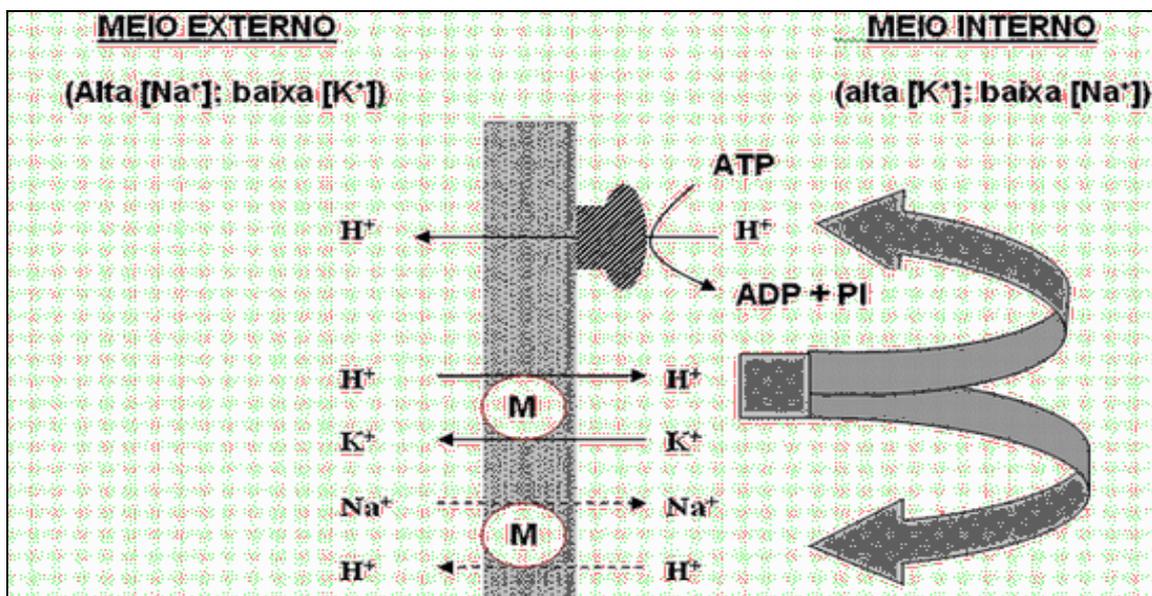


Figura 2 – Movimento de íons através da membrana de bactérias Gram-positivas (Russel & Strobel, 1989).

Esta exaustão de ATP faz com que as bactérias gram-positivas desapareçam do meio, como é o caso do *Ruminococcus albus*; *Ruminococcus flavefaciens* e o *Butyvirbio fibresolvans*.

As gram-negativas realizam a fosforilação oxidativa, produzindo mais ATP por mol de glicose fermentada, e por possuírem a camada de peptidoglicanas, sofrem o efeito dos ionóforos, mas sobrevivem no meio e, por uma menor competição pelo substrato das gram-positivas acaba por dominar o meio. Isto é o que ocorre, por exemplo, com o *Bacteroides succinogeneses*, *Bacteroides rumenicola* e *Selenomonas ruminantium* (Russel & Strobel, 1989).

O que ocorre em relação às bactérias metanogênicas é que com a utilização do hidrogênio por outras bactérias, ocorre uma diminuição na produção de metano. Desta forma, as bactérias metanogênicas não são afetadas (Santos, 1991).

## 1.2. Toxidez e Resistência

É importante mencionar que os ionóforos podem acarretar riscos de intoxicação aos bovinos, sendo necessário cuidado para evitar erros nas formulações e mistura dos componentes da dieta alimentar.

A monensina é rapidamente excretada após sua ingestão, com mínimo acúmulo nos tecidos animais. Mas existe possibilidade de que a taxa de excreção metabólica seja excedida, e efeitos tóxicos da monensina surjam em animais recebendo dieta com monensina ou em seres humanos consumindo tecidos desses animais.

Não existem trabalhos na literatura que comprovem resistência de bactérias ao uso de ionóforos. A idéia de que a resistência aos ionóforos é uma seleção fenotípica, sustentada por medições do fluxo de potássio monensina-dependente, é mais aceita do que a mutação ou aquisição de genes externos (Russel & Houlihan, 2003). Além disso, genes responsáveis pela resistência das bactérias aos ionóforos não têm sido identificados e há uma pequena evidência de que a resistência aos ionóforos possa ser transferida de uma bactéria para outra (Domesicik & Martin, 1999).

Devido a isso, o uso de ionóforos na alimentação animal, provavelmente não tem impacto na transferência de resistência a antibióticos dos animais para os humanos (Russel & Houlihan, 2003).

## 2. ÓLEOS ESSENCIAIS

Pesquisas utilizando os compostos químicos provenientes de extratos vegetais, isolados ou em sinergia, ou mesmo a utilização de extratos vegetais na nutrição e manejo de ruminantes tornou-se importante nos últimos anos, apesar dos dados obtidos ainda não serem conclusivos. Grande parte dos trabalhos de investigação da ação dos extratos vegetais no metabolismo dos ruminantes refere-se, principalmente, a atuação dos extratos no ambiente ruminal. Nestas condições, verificam-se resultados semelhantes à utilização de ionóforos quanto aos produtos resultantes dos processos fermentativos e ao balanço populacional de bactérias e protozoários no ambiente ruminal.

Os óleos essenciais são uma mistura de terpenóides aromáticos, líquidos e lipofílicos (Kohlert et al., 2000), obtidos a partir de diferentes partes da planta, tais como, folhas, raízes, caule ou de mais de uma parte, sendo que a melhor tecnologia para extração

destes óleos essenciais é por destilação a vapor, quando comparadas pela extração com metanol ou hidróxi-acetona (Burt, 2004). Vários são os princípios ativos dos óleos essenciais, tais como o timol (extraído do tomilho – *Thymus vulgaris*), carvacrol (extraído do orégano – *Origanum sativum*), alina e alicina (extraídos do alho – *Allium sativum*), citrol e citronolol (extraídos de diversas plantas cítricas), mentol (extraído da menta – *Mentha piperita*) e cinamaldeído (extraído da canela – *Cinnamomum zeylanicum*) já possuem sua funcionalidade conhecida, além dos métodos de extração para estes óleos essenciais serem de fácil operação (Velluti et al., 2003). Alguns pesquisadores acreditam que, para obtenção de melhores resultados, devem ser administradas combinações de óleos essenciais de diferentes plantas (Langhout, 2000) e reforçados pelos princípios ativos mais relevantes (Kamel, 2000).

### 2.1. Modo de Ação

O modo de ação dos óleos essenciais em ruminantes ainda não está completamente elucidado. No entanto algumas hipóteses têm sido levantadas: (1) controle de patógenos pela atividade antimicrobiana, (2) atividade antioxidante, (3) melhora na digestão, pelo do estímulo da atividade enzimática e (4) morfometria dos órgãos.

Segundo Kohlert et al. (2000), os princípios ativos dos óleos essenciais são absorvidos no intestino pelos enterócitos e metabolizados rapidamente no organismo animal. Os produtos deste metabolismo são transformados em compostos polares, pela conjugação com o glicuronato, e excretados na urina. Outros princípios ainda podem ser eliminados pela respiração como CO<sub>2</sub>. A rápida metabolização e a curta meia vida dos compostos ativos levam a crer que existe um risco mínimo de acúmulo nos tecidos.

#### 2.1.1. Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana é um dos efeitos intrínsecos dos extratos de plantas. Diversas referências na literatura científica demonstram uma clara evidência de atividade antibacteriana e antifúngica (*in vitro*) e anti-viral de muitos extratos contra patógenos dos animais e dos alimentos (Brugalli, 2003).

O mecanismo pelo qual a maioria dos óleos essenciais exerce seu efeito microbiano é pela sua atividade na estrutura da parede celular bacteriana, desnaturando e coagulando as

proteínas. Mais especificamente, atuam alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática por íons de hidrogênio e potássio. A alteração dos gradientes de íons conduz à deterioração dos processos essenciais da célula como transporte de elétrons, translocação de proteínas, etapas da fosforilação e outras reações dependentes de enzimas, resultando em perda do controle quimiosmótico da célula afetada e, conseqüentemente, a morte bacteriana (Dorman & Deans, 2000).

Os mesmos autores sugerem que o rompimento das paredes celulares se deve ao caráter lipofílico dos óleos essenciais que se acumulam nas membranas. As bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa que contém lipossacarídeos, formando uma superfície hidrofílica. Este caráter hidrofílico cria uma barreira à permeabilidade das substâncias hidrofóbicas como os óleos essenciais. Isso pode explicar a freqüente resistência das bactérias Gram-negativas ao efeito antimicrobiano de alguns óleos essenciais (Chao et al., 2000).

Newbold et al. (2004) desenvolveram trabalhos com ovinos fistulados, onde ocorreu uma ação antimicrobiana seletiva dos óleos essenciais sobre a flora ruminal, observando alterações na degradação da proteína e no processo de deaminação no rúmen.

### 2.1.2. Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante dos óleos essenciais está relacionada, principalmente, com a presença de compostos fenólicos. No entanto, compostos como os flavonóides e terpenóides também apresentam atividade antioxidante. Essas substâncias podem interceptar e neutralizar radicais livres, impedindo a propagação do processo oxidativo (Hui, 1996).

### 2.1.3. Atividade sobre a Digestibilidade

Acredita-se que os óleos essenciais possam estimular a produção de saliva e dos sucos gástrico e pancreático, beneficiando a secreção enzimática e melhorando a digestibilidade dos nutrientes (Mellor, 2000).

O estímulo da produção de enzimas e secreções intestinais é o efeito mais estudado na tentativa de explicar a melhora da digestibilidade. Porém, pode existir a contribuição de outros mecanismos nesse processo.

## 2.2. Óleo de Mamona

A mamona (*Ricinus communis L.*), pertence à família Euphorbiaceae, que engloba vasto número de tipos de plantas nativas da região tropical. É uma planta de hábito arbustivo, com diversas colorações de caule, folhas e racemos (cachos), podendo ou não possuir cera no caule e pecíolo. Os frutos, em geral, possuem espinhos e, em alguns casos, são inermes. As sementes apresentam-se com diferentes tamanhos, formatos e grande variabilidade de coloração.

O óleo de mamona ou de rícino, extraído pela prensagem das sementes, contém 90% de ácido graxo ricinoléico, o qual confere ao óleo suas características singulares, possibilitando ampla gama de utilização industrial, tornando a cultura da mamoneira importante potencial econômico e estratégico ao país.

A cadeia carbônica do ácido graxo ricinoléico proporciona sítios em que são realizadas reações químicas, com obtenção de gama variada de derivados pela modificação da estrutura da cadeia carbônica.

É um ácido graxo muito parecido ao ácido oléico, sendo a única diferença um radical hidroxila presente no ácido ricinoléico e ausente no oléico. Por este motivo o ácido ricinoléico é também chamado hidroxioleico. O ácido ricinoléico funciona como um ionóforo divalente (Vieira et al., 2001).

Segundo a Comissão Européia o óleo de rícino e o ácido ricinoléico, embora não sejam gorduras alimentares, em baixas doses podem ser consideradas como tais (Opinion of the Scientific Committee on Food on the 23rd additional list of monomers and additives for food contact materials). Portanto, do ponto de vista de resíduos na carcaça, não apresentaria nenhum tipo de problema.

O IPCS INCHEM define o óleo de rícino para humanos como seguro a dosagens de 0 a 0,7 g/Kg de peso vivo (0,7 g/Kg de peso vivo corresponderia a 7 kg/ton de ração). As concentrações de óleo de rícino no Essential - Oligobasics<sup>®</sup> encontram-se dentro do considerado seguro pelo INCHEM e muito longe das dosagens que seriam consideradas laxativas.

O óleo ricinoléico é estável a temperaturas superiores as temperaturas usadas na extrusão, sendo este estável a temperaturas superiores a 200°C (Chowderry & Mukheiji, 1956).

Na Figura 3 é apresentado um fluxograma do processo de extração do óleo da mamona.

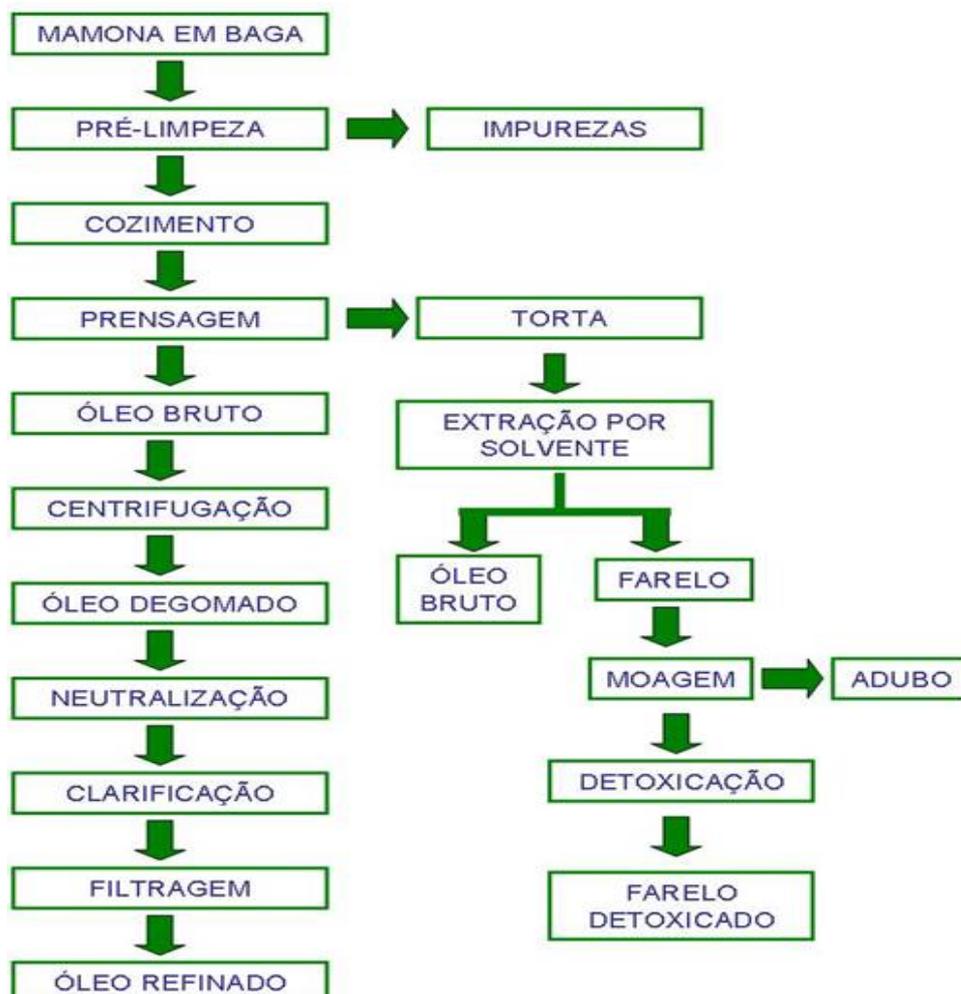


Figura 3 – Fluxograma do processo de extração do óleo de mamona (Andriguetto et al., 1992).

### 2.3. Óleo de Cajú

O cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) é uma planta tropical, originária do Brasil, dispersa em quase todo o seu território. A Região Nordeste, com uma área plantada superior a 650 mil hectares, responde por mais de 95% da produção nacional, sendo os estados do Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte e Bahia os principais produtores.

Os princípios ativos do óleo de cajú são o ácido anacárdico (2 – 3%), cardol (15 – 18%) e cardanol (75 – 80%).

O ácido anacárdico e o cardol são os dois componentes do óleo de cajú com ação antimicrobiana. Os dois são compostos fenólicos. Funcionam como um ionóforo monovalente (Nagabhusa et al., 1995). O cardanol tem atividade tanto antiinflamatória como antioxidante (Amoratti et al., 2001 e Trevisan et al., 2006).

Estes tipos de compostos ativos do cajú são compostos que protegem as plantas do ataque de fungos e bactérias. Toyomizu et al. (2003) usaram até 8 kg/tonelada de óleo de cajú em uma ração de aves de engorda sem nenhum efeito negativo.

O óleo de cajú é estável a temperaturas superiores as temperaturas usadas na extrusão (200°C).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORATI, R.; PEDULLI, G. F.; VALGIMIGLI, L. Absolute rate constants for the reaction of peroxy radicals with cardanol derivatives. **Journal Chemic Perkin**, p.2142-2146, 2001.
- ANDRIGUETTO, J. M., PERLY, L., MINARDI, I., FLEMMING, J. S., et al., Normas e padrões de nutrição e alimentação animal, **Nutrição Editora e Publicitária Ltda**, p.146, 1992.
- BERGEN, G.W.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and more of action. **Journal Animal Science**, v. 58, n. 6, p.1465-1483, 1984.
- BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas. **Anais...Campinas: CBNA**, p.167-182, 2003.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n.3, p.223-253, 2004.
- CHAO, S.C.; YOUNG,D.G.; OBERJ,C.G. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. **Journal of Essential Oil Research**, Winston-Salem, v.12, p.639-649, 2000.
- CHOWDERRRY D.K.; MUKHEIJI B.K. Studies on Dehydrated Castor Oil – Part II. **Journal Chemic**, v. 22, n. 4, p.199-203, 1956.
- DOMESCIK, E. J.; MARTIN, S. A., Effects of laidlomycin propionate and monensin on the in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 8, p. 2305-2312, 1999.
- DORMAN, H.J.D; DEANS,S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, p.308-316, 2000.

- ENSMINGER, M.E.; OCAFIELD, J. & HEINEMAN, W.W. **Feeds & Nutrition**, California, p.520, 1990.
- HUI, Y.H. Oleoresins and essential oils. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. New York: Wiley-Interscience Publication, cap.6, p.145-153, 1996.
- IPHARRAGUERRE, I.R.; CLARK, J.H. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: A review. **Animal Feed Science and Technology**. v. 106, p.39-57, 2003.
- KAMEL,C. A novel look at a classic approach of plant extracts. **Feed Mix-The International Journal on Feed, Nutrition and Technology**, v.18, n.6, p.19-24, 2000.
- KOHLERT,C; VAN RENSEN, I; MARZ, R. Bioavailability and pharmokinetics of natural volatile terpenes in animal and humans. **Planta Medica**, v.66, p.495-505, 2000.
- LANGHOUT, P. New additives for broiler chickens. **Feed Mix-The International Journal on Feed, Nutrition and Technology**, v.18, n.6, p.24-27, 2000.
- LOYOLA, V.R; PAILE, B.J.A. Utilização de aditivos em rações de bovinos: Aspectos regulatórios e de segurança alimentar. In: Anais 8º SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS – MINERAIS E ADITIVOS PARA BOVINOS. BITTAR, C.M.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P; MATTOS, W.R.S. FEALQ. Piracicaba. p.213-224, 2006.
- MACHADO, P. F.; MADEIRA, H.M.F. Manipulação de nutrientes em nível de rúmen efeitos do uso de ionóforos. In: Novas tecnologias de produção animal, **Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Campinas/SP, p.41-58, 1990.
- MELLOR,S. Alternatives to antibiotic. **Pig Progress**, v.16, p.18-21, 2000.
- NAGABHUSHSA K.S., ASH V.N., OBHA; RAVINDRANATH V. Selective ionophoric properties of anacardic acid. **Journal Natural Produced**, v. 58, n. 5, p.807-810, 1995.
- NEWBOLD, C.J.; MCINTOSH, F.M.; WILLIAMS, P. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v.114, p. 105-112, 2004.
- OLIVEIRA, M.D.S.; VIEIRA, P.F.; GIMENEZ, M. Potential impact on human health. **Microbiology Review**, v.27, p.65-74, 1987.
- RUSSEL J.B.; STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. Applied and Environmental microbiology, **Journal of Animal Science**. v. 55, n. 1, p.1-6, 1989.
- RUSSELL, J.B.; HOULIHAN, A.J.. The ionophore resistance of ruminal bacteria. **Archive Veterinária**, v. 3, n. 1, p. 113-118, 2003.
- SANTOS, F.A.P. **Efeito do bicarbonato de sódio, lasalocida e cana de açúcar sobre o desempenho de bovinos alimentados com bagaço de cana tratado sob pressão de**

- vapor**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 1991. 127p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)
- SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal Animal Science**, v. 58, n. 6, p.1518-1527, 1984.
- SILVA, S.C. Efeito de bicarbonato de sódio, e/ou losalocida sobre os parâmetros ruminais de bovinos alimentados com bagaço de cana tratado a pressão de vapor. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 1990. 130p., Dissertação (Mestrado em Zootecnia)
- TOYOMIZU M., NAKAI Y., NAKATSU T. Inhibitory effect of dietary anacardic acid supplementation on cecal lesion formation following chicken coccidial infection. **Journal Animal Science**, v. 74, p.105–109, 2003.
- TREVISAN M.T.S., PFUNDSTEIN B., HAUBNER R. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food Chemical Toxicology**, v. 44, n. 2, p.188-97, 2006.
- VELLUTI, A.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, orégano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B<sub>1</sub> production by *Furarium proliferatum* in maize grain. **Food Microbiology**, v. 89, p.145–154, 2003.
- VIEIRA, C., FETZER S., SAUER S.K. Pro and antiinflammatory actions of ricinoleic acid similarities and differences with capsaicin. **Archive Pharmacology**, v. 364, p.87–95, 2001.

## **OBJETIVOS GERAIS**

A pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar diferentes níveis de óleos essenciais de mamona e cajú (Essential - Oligobasics®) e monensina sódica na dieta de bovinos (alto grão e alto volumoso) sobre o consumo, a digestibilidade aparente dos nutrientes, os parâmetros ruminais, a concentração de nitrogênio uréico plasmático, a eficiência de síntese de proteína microbiana e a cinética ruminal.

## CAPÍTULO I – MONENSINA SÓDICA E ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS

**Resumo:** Objetivou-se avaliar o fornecimento de monensina sódica ou óleos essenciais de mamona e cajú (Essencial - Oligobasics<sup>®</sup>) em dietas com alto grão para bovinos, sobre o consumo voluntário, coeficiente de digestibilidade aparente total dos nutrientes, parâmetros ruminais e sanguíneos, síntese de proteína microbiana e cinética ruminal. Foram utilizados cinco novilhos da raça Nelore com 270 kg  $\pm$  34 kg de peso vivo e implantados com cânula ruminal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5 x 5, e os tratamentos consistiram em: 0,2 g/dia de monensina sódica (MON), 1 g/dia de Óleos Essenciais (OL1), 2 g/dia de Óleos Essenciais (OL2), 4 g/dia de Óleos Essenciais (OL4) e 8 g/dia de Óleos Essenciais (OL8). O consumo dos nutrientes não foi alterado ( $P>0,05$ ) pelos tratamentos. A inclusão de monensina e 2 e 4 g/dia de óleos essenciais mostrou ( $P<0,05$ ) os maiores valores de digestibilidade aparente total da MS, MO, PB, FDN, EE e NDT. Os diferentes aditivos não alteraram ( $P>0,05$ ) a produção de amônia ruminal, no entanto os níveis intermediários de óleos essenciais não se diferenciaram ( $P<0,05$ ) da monensina em relação ao pH ruminal, sendo o melhor nível de óleos essenciais administrado de 3,54 g/dia. A concentração de ácido acético foi aumentada quando se administrou 1 g/dia de óleos essenciais. A concentração de alantoína aumentou ( $P<0,05$ ) com a adição de monensina e óleos essenciais (2 e 4 g/dia), assim como a síntese de proteína microbiana. Os diferentes aditivos não modificaram ( $P>0,05$ ) a taxa de passagem, volume ruminal e tempo de retenção do alimento. Em dietas com alto grão para bovinos em crescimento, utilizando o produto natural Essencial, resultados semelhantes à monensina foram demonstrados quando se administrou 4 g/dia de óleos essenciais.

**Palavras chave:** aditivos, cajú, concentrado, extratos de plantas, mamona, ruminantes

## **SODIUM MONENSIN AND CASTOR AND CASHEW ESSENTIAL OILS IN HIGH GRAIN DIETS FOR STEERS**

**Abstract:** This experiment was conducted to study the effects of sodium monensin or castor and cashew essential oil (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>) in steer high grain diets, on voluntary intake, total apparent digestibility coefficient of nutrients, rumen and blood metabolites, microbial protein synthesis and ruminal kinetic. Five Nelore steers weighing 270 kg  $\pm$  34 kg of live weight and implanted with ruminal cannula were used. The experimental design was a Latin square 5 x 5, and treatments consisted of: 0.2 g/d of Sodium Monensina (MON), 1 g/d of Essential Oil (OL1), 2 g/d of Essential Oil (OL2), 4 g/d of Essential Oil (OL4) and 8 g/d of Essential Oil (OL8). Intake was not influenced ( $P>0.05$ ) by treatments. The inclusion of monensin and 2 and 4 g/d of essential oil showed ( $P<0.05$ ) higher values of total apparent digestibility of DM, OM, CP, NDF, EE and TDN. The additives did not affect ( $P<0.05$ ) ruminal ammonia production, however, the intermediate levels of essential oil did not differentiated ( $P<0.05$ ) of monensin that obtained the highest values of ruminal pH. The best level of essential oil to control ruminal pH was 3.54 g/d. Acetic acid concentration was increased when administered 1 g/d of essential oil. Allantoin concentration increased ( $P<0.05$ ) for addition monensin and essential oil (2 and 4 g/d), as well as microbial protein synthesis. Additives did not affect ( $P<0.05$ ) dilution rate, ruminal volume and retention time of feed. In high grain diets, the use of the natural product Essential, showed similar results as compared to monensin when administered 4 g/d of essential oil.

**Key words:** additives, cashew, castor, high grain, plants extract, ruminants

## Introdução

Ruminantes estabelecem uma relação simbiótica com os microrganismos do rúmen através da qual o animal proporciona nutrientes e ótimas condições ambientais para os microrganismos que fermentam os alimentos, degradam a fibra e sintetizam proteína. Contudo, esta relação simbiótica tem gasto de energia (perdas de metano) e de proteínas (perdas de nitrogênio amoniacal) (Van Nevel & Demeyer, 1988).

Estas perdas não só reduzem o desempenho, mas também contribuem para a liberação de poluentes para o ambiente (Tamminga, 1996). Há muito tempo, nutricionistas vem buscando melhorar a eficiência da utilização de energia e de proteína no rúmen. Isto foi conseguido pela otimização nas formulações de dieta e à utilização de aditivos que modificam o ambiente ruminal e melhorem ou inibem populações microbianas específicas (Calsamiglia et al., 1996).

Ionóforos têm sido muito bem sucedidos na redução dessas perdas energéticas e de proteínas no rúmen (Van Nevel & Demeyer, 1988). No entanto, a utilização de antibióticos na alimentação animal é reduzida e enfrenta uma aceitação social por causa do aparecimento de resíduos e estirpes de bactérias resistentes, e a sua utilização tem sido proibida na União Européia desde janeiro de 2006 (Directiva 1831/2003/CEE, Comissão Européia, 2003).

Por esta razão, os pesquisadores tornaram-se interessados em avaliar alternativas para substituir os ionóforos, entre elas o uso de óleos essenciais, que são frações voláteis naturais, extraídas de plantas aromáticas que evaporam a temperatura ambiente.

Dentre os possíveis mecanismos de ação dos óleos essenciais no organismo animal, podem-se citar informações da microflora intestinal, aumento na digestibilidade e absorção de nutrientes, pelo estímulo da atividade enzimática, melhora da resposta imune, controle na produção de amônia, modificações morfo-histológicas do trato gastrointestinal e atividade antioxidante (Brugalli, 2003).

Embora alguns efeitos já tenham sido demonstrados, ainda existe um grande desconhecimento dos mecanismos envolvidos. Há necessidades de investigações mais profundas da ação dos princípios ativos e seus efeitos *in vivo*, permitindo ganhos

expressivos no desempenho dos animais para que os extratos vegetais possam ser adotados expressivamente na nutrição animal.

Este trabalho foi conduzido para avaliar o uso de ionóforo (monensina sódica) ou diferentes níveis de óleos essenciais de mamona e cajú, em dietas com alto grão sobre o consumo, digestibilidade aparente total dos nutrientes, parâmetros ruminais, parâmetros sanguíneos, síntese de proteína microbiana e cinética ruminal.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi, localizada no distrito de Iguatemi e no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (DZO), ambos pertencentes à Universidade Estadual de Maringá (UEM), e no Laboratório de Bromatologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz” – ESALQ em Piracicaba-SP, no período de outubro de 2007 a julho de 2008. Foram utilizados cinco novilhos da raça Nelore pesando em média  $270 \pm 34$  kg de peso vivo (PV).

Os animais foram alojados em baias individuais cobertas, com  $8,75 \text{ m}^2$  de área útil, dotadas de um comedouro individual e bebedouro automático. As baias eram limpas todos os dias e lavadas uma vez por semana, e os bebedouros lavados diariamente, assegurando assim, o fornecimento de água de boa qualidade. As cânulas de rúmen eram verificadas e limpas diariamente para garantir a higiene dos animais. Os animais foram vacinados e vermifugados antes do início do período experimental.

Os animais receberam a mesma dieta basal, dividida em duas refeições diárias (8:30hs e 16:30hs), no entanto, a monensina ou os óleos essenciais foram fornecidos imediatamente antes da primeira alimentação, misturados à 300 g do concentrado para garantir a ingestão dos seguintes tratamentos:

MON = 0,2 g/dia de Monensina Sódica

OL1 = 1 g/dia de Óleos Essenciais (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>)

OL2 = 2 g/dia de Óleos Essenciais (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>)

OL4 = 4 g/dia de Óleos Essenciais (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>)

OL8 = 8 g/dia de Óleos Essenciais (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>)

O produto comercial (Essential) utilizado para fornecer óleos essenciais é composto por princípios ativos oriundos do óleo de mamona e do óleo de cajú e um veículo (vermiculina).

Os períodos experimentais tiveram a duração de 21 dias, com quatro dias de coleta de amostras (alimentos, sobras, fezes, urina, sangue e líquido ruminal) realizadas no

período compreendido entre o 18<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup> dias. A quantidade de alimento fornecida foi calculada e ajustada diariamente de modo a permitir aproximadamente 10% de sobras no cocho. As sobras foram recolhidas e pesadas todos os dias, antes do fornecimento do primeiro trato, para determinação do consumo diário, e os alimentos foram amostrados no momento do preparo das rações.

Os alimentos utilizados na composição das dietas experimentais foram: silagem de milho, grão de milho moído, farelo de soja, uréia, fosfato bicálcico, calcário e suplemento mineral. A proporção volumoso: concentrado foi de 20:80.

A composição química e percentual dos alimentos e da dieta experimental está representada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química e percentual dos alimentos e dieta experimental (%MS)

Alimentos	Composição dos alimentos				Composição da dieta
	NDT	PB	FDN	EE	
Silagem de Milho	64,00	7,25	55,41	3,16	20,00
Milho Moído	87,00	9,00	13,98	4,07	62,18
Farelo de Soja	81,50	49,00	14,62	1,71	14,80
Uréia		281,00			0,72
Fosfato Bicálcico					0,45
Calcário					0,93
Suplemento Mineral					0,83
NDT					79,00
PB					16,35
FDN					21,95
EE					3,40

Fonte: Valadares Filho et al. (2006)

Para a determinação da digestibilidade aparente total dos nutrientes foi efetuada coleta de fezes na ampola retal (50 g), no 18º e 20º dia de cada período experimental, duas vezes ao dia em períodos alternados a cada 4 horas. As amostras de alimentos, sobras e fezes foram armazenadas a -20°C. Após o término de cada período de coleta, foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas em peneiras com crivo de 1mm, homogeneizadas para confecção de amostras compostas por animal para cada período.

O óxido de cromo e o cobalto-EDTA foram utilizados como indicadores externos para determinar a produção fecal e a taxa de diluição, respectivamente, sendo o óxido de cromo colocado junto ao aditivo no horário da alimentação da manhã, em uma dose diária de 10,0 g, a partir do 7º dia de cada período.

As determinações dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) foram realizadas, conforme os procedimentos da AOAC (1990); fibra em detergente neutro (FDN) conforme Van Soest et al. (1991) e o teor de cromo foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica, conforme técnica descrita por Willians et al. (1962), e usado juntamente com a concentração de nutrientes para determinar o fluxo de nutrientes para as fezes.

Os carboidratos não fibrosos foram calculados pela seguinte equação (Sniffen et al., 1992):  $CNF = 100 - (\%FDN + \%PB + \%EE + \%MM)$ .

Os nutrientes digestíveis totais das dietas foram calculados segundo Sniffen et al. (1992):  $NDT = PBD + FDND + (EED \times 2,25) + CNFD$

Durante o 21º dia, foram coletadas, via cânula ruminal, amostras de líquido ruminal (aproximadamente 150 mL) para determinação do pH, concentração de N amoniacal, concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e concentração de Cobalto-EDTA. A primeira coleta era iniciada imediatamente antes do fornecimento da primeira refeição do dia (8:00hs), sendo esta coletada no tempo 0 e as próximas 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 e 14hs após a primeira alimentação. Após cada coleta de líquido ruminal, o pH era medido imediatamente com auxílio de um peagâmetro digital (Digimed DM20).

Para análise de N amoniacal uma alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi acidificada com 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:1) e armazenado a -20° C, para posterior análise. O líquido ruminal foi descongelado em temperatura ambiente e, posteriormente, centrifugado

a 3000 x g por 15 minutos. A concentração de N amoniacal das amostras de líquido ruminal foi determinada pela técnica de Ferner (1965) modificada por Vieira (1980).

Para análise de AGCC foi armazenado imediatamente aproximadamente 50 mL de líquido ruminal a -20°C para posterior análise no Laboratório de Bromatologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”. Para determinação de AGCC, as amostras sofreram centrifugação a 15.000 g (4° C), durante 50 minutos, sendo analisadas de acordo com Campos et al. (2004) em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC), equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett Packard 6890 Series Injector). O padrão interno utilizado foi o ácido 2-metilbutírico sendo acrescentado, em cada tubo para leitura em cromatógrafo, 100µl do padrão interno, 800µl da amostra e 200µl de ácido fórmico. Uma mistura de ácidos graxos de cadeia curta com concentração conhecida foi utilizada como padrão externo para a calibração do integrador.

Para análise de cobalto-EDTA foi armazenado a -20°C aproximadamente 50 mL de líquido ruminal para posterior análise. Para determinação do volume ruminal e taxa de diluição, ministrou-se aproximadamente 30 g do complexo cobalto ácido etileno diamino tetra acético (Co-EDTA), diluído em 500 mL de água deionizada, antes da primeira refeição (8:00hs) do último dia do período experimental. A determinação do cobalto foi feita por espectrofotometria de absorção atômica conforme Willians et al. (1992), no Laboratório de Solos do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá.

Para ajuste aos dados das concentrações de cobalto nas amostras de líquido ruminal, foi utilizado o modelo exponencial unicompartimental relatado por Colucci (1984), cuja expressão é:  $Y = A * e^{-k * t}$ . em que: “Y” e “A” (ppm) referem-se às concentrações do indicador nos tempos “t” e zero, respectivamente; e k (/h) corresponde à taxa constante de diluição ou taxa de passagem da fase líquida no rúmen. O volume de fluído ruminal (V, litros) foi estimado a partir da relação entre a quantidade de cobalto administrada (mg) e o valor de “A” estimado pelo modelo. O tempo de retenção (TRet, h) foi calculado como a recíproca da taxa de passagem no rúmen (Kp).

Foram coletadas amostras de sangue no 19º e 20º dias de cada período, três horas após a primeira alimentação, por punção da veia jugular, utilizando-se a heparina como

anticoagulante. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 2500rpm e o plasma foi transferido para tubos eppendorf. O plasma resultante foi armazenado a -20°C para posterior análise de N-uréia plasmática utilizando-se kits comerciais (Gold Analisa).

Foram coletadas duas amostras spot de urina, no 19º e 20º dia de cada período experimental, entre 3 e 4 horas após o fornecimento dos alimentos (pela manhã), durante micção espontânea. Imediatamente após a coleta a urina foi homogeneizada e foi medido o pH por meio de um peagâmetro digital (Digimed DM20). Em seguida, foi filtrada através de filtros de papel e alíquotas de 15 mL foram diluídas imediatamente em 135 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,036 N (Chen et al., 1995). Estas amostras tiveram o pH ajustado para valores inferiores a 3, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico, e foram armazenadas a -20°C para posteriores análises de creatinina, alantoína e ácido úrico.

A partir da excreção média de creatinina, obtida em experimentos com bovinos da raça Nelore, que foi de 27,8 mg/kg de PV (Rennó, 2003), e da concentração de creatinina (mg/L) na amostra spot de urina, foi estimado o volume diário de urina. Esse volume foi utilizado para estimar as excreções diárias de alantoína e ácido úrico de cada animal.

As análises de alantoína na urina foram feitas pelo método colorimétrico, conforme a técnica de Fujijara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes, (1992). A estimativa de concentração de creatinina e ácido úrico na urina foi realizada utilizando-se kits comerciais (Labtest).

O experimento foi conduzido em delineamento experimental em quadrado latino 5 x 5. A análise de variância foi realizada utilizando a metodologia de modelos mistos do pacote estatístico SAS (2000). Para as variáveis repetidas no tempo foi considerado também o efeito de hora e da interação entre hora e tratamento. Os efeitos dos níveis de inclusão dos óleos essenciais foram analisados por modelos de regressão, assim como os efeitos de tempo. O uso da monensina foi comparado com cada nível experimental de óleos essenciais adicionados por meio do teste de Dunnett.

O modelo matemático utilizado incluiu os efeitos de período, tratamento, e de animal, que foi considerado como aleatório:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}$$

onde:

$\mu$  = média dos tratamentos;

$A_i$  = efeito do animal  $i$ , variando de 1 a 5;

$P_j$  = efeito do período  $j$ , variando de 1 a 5;

$T_k$  = efeito do tratamento  $k$ , variando de 1 a 5;

$e_{ijk}$  = erro aleatório.

## Resultados e Discussão

### Consumo e Digestibilidade Aparente Total dos Nutrientes

O consumo de MS não foi influenciado pelos diferentes aditivos administrados (monensina e óleos essenciais) e nem pelos diferentes níveis de inclusão (1, 2, 4 e 8 g/dia de óleos essenciais) (Tabela 2). Schelling (1984) menciona que ruminantes alimentados com dietas ricas em grãos com suplementação de monensina têm ingestão alimentar diminuída em até 10,7%. Segundo Baile et al. (1979), pode ocorrer aversão ao alimento suplementado com ionóforo, diminuindo sua ingestão. No presente caso, ao contrário da maioria dos trabalhos, a suplementação foi efetuada antes dos animais receberem as refeições, não associando o produto ao alimento, o que provavelmente explica esses resultados.

Embora pesquisas relatem que os óleos essenciais possuem propriedades atrativas e palatáveis que influenciam no consumo dos animais (Cardozo et al., 2006; Wallace, 2007), não obtivemos resposta neste sentido. Meyer et al. (2007) trabalhando com bovinos recebendo dietas alto grão à base de milho, testaram um produto (Crina Ruminants<sup>®</sup>) composto por vários princípios ativos de inúmeros óleos essenciais, como o timol, eugenol, vanilina, guaiacol e limonese, em comparação com a administração de monensina e com um controle (sem administração de aditivo), e não encontraram nenhuma diferença estatística em relação à ingestão de matéria seca.

Benchaar et al. (2006a) não observaram diferenças significativas no consumo de matéria seca quando vacas em lactação foram suplementadas com um composto de óleos essenciais (Crina Ruminants<sup>®</sup>) em nível de 2 g/dia quando comparadas a vacas sem suplementação. Da mesma forma, Benchaar et al. (2003) não observaram mudanças na ingestão de matéria seca quando vacas lactantes foram alimentadas com uma mistura de óleos essenciais (750 mg/dia; Crina Ruminantes<sup>®</sup>), no entanto quando bovinos de corte alimentados com dieta a base de silagem de milho foram suplementadas com um composto de diferentes óleos essenciais (2 e 4 g/dia; Vertan<sup>®</sup>) houve um aumento na ingestão de matéria seca quando comparados a animais não suplementados (Benchaar et al., 2006b).

Tabela 2 – Médias, equações de regressão, coeficientes de variação (CV) e teste de Dunnett para ingestão (ING), fluxo fecal (FF) e digestibilidade aparente total (DIG) da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta.

	Tratamentos <sup>1</sup>					Regressão	CV (%)	Teste de Dunnett <sup>2</sup>			
	MON	OL1	OL2	OL4	OL8			MONx OL1	MONx OL2	MONx OL4	MONx OL8
Matéria Seca											
ING (g/dia)	6323,43	6387,49	6982,24	6697,88	6504,04	Y = 6642,91	29,84	-	-	-	-
ING (% PV)	2,34	2,37	2,59	2,48	2,41	Y = 2,46	48,63	-	-	-	-
ING (g/Kg PV <sup>0,75</sup> )	94,94	95,90	104,83	100,56	97,65	Y = 99,74	22,69	-	-	-	-
FF (g/dia)	1922,65	2497,93	1965,66	2198,28	2646,86	Y = 2327,18	22,74	***	-	-	***
DIG (%)	69,59	60,89	71,42	67,18	59,30	Y = 64,70	15,65	***	-	-	***
Matéria Orgânica											
ING (g/dia)	5962,57	6027,55	6588,88	6320,21	6132,93	Y = 6267,39	29,86	-	-	-	-
FF (g/dia)	1730,92	2224,51	1754,20	1992,51	2402,81	Y = 2093,51	23,52	***	-	-	***
DIG (%)	70,97	63,09	73,38	68,47	60,82	Y = 66,44	14,82	***	-	-	***
Proteína Bruta											
ING (g/dia)	1093,22	1093,23	1197,11	1149,78	1119,66	Y = 1139,95	30,45	-	-	-	-
FF (g/dia)	351,94	478,57	385,93	384,07	450,33	Y = 424,73	20,75	***	-	-	***
DIG (%)	67,81	56,22	67,73	66,60	59,78	Y = 62,58	19,59	***	-	-	-

<sup>1</sup> MON = 0,2 g/dia/animal de monensina; OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

<sup>2</sup> Teste de Dunnett:: \*\*\* diferente a P<0,05

Ao avaliar novilhos alimentados com dieta com alto nível de concentrado com ou sem a adição de óleo essencial oriundo da erva-doce (*Pinpinella anisum*) na proporção de 2 g/animal/dia, Cardozo et al. (2005) observaram que os animais que consumiram o óleo essencial tiveram maior consumo de matéria seca.

Estudando os efeitos da adição de óleos essenciais de espécies dos gêneros *Capsicum* (500 mg/dia) e *Anisum* (500 mg/dia) frente a monensina sódica (238 mg/dia) em dietas de novilhas leiteiras, Fandiño et al. (2007), observaram maior consumo de matéria seca para o tratamento *Capsicum*, em relação às outras dietas. Segundo os autores isto se deu pela maior palatabilidade dos óleos de plantas deste gênero, como pimentas e pimentões.

A excreção fecal foi menor com a administração da monensina quando esta foi contrastada com os tratamentos que utilizaram 1 e 8 g/dia de óleos essenciais (Teste de Dunnett). O teste de Dunnett demonstra que houve diferença ( $P < 0,05$ ) significativa na digestibilidade aparente total da MS. O tratamento que continha monensina não diferenciou estatisticamente ( $P > 0,05$ ) dos tratamentos que continham óleo essencial em nível de 2 e 4 g/dia, sendo esses os que apresentaram melhores valores quando comparados ( $P < 0,05$ ) aos tratamentos que forneceram 1 e 8 g/dia de óleos essenciais. Esta melhora na digestibilidade da matéria seca provavelmente se deve, pois, de acordo com vários autores, a adição de extratos vegetais na dieta pode aumentar a secreção da saliva, do suco gástrico, do suco pancreático, sais biliares e também enzimas do intestino delgado (Sambaiah, 1991; Platel et al., 1996).

Em relação à matéria orgânica (Tabela 2), não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para o consumo deste nutriente. O teste de Dunnett mostrou ( $P < 0,05$ ) que a monensina obteve valores menores de fluxo fecal em relação ao nível 1 e 8 g de óleos essenciais. A digestibilidade aparente total da matéria orgânica sofreu efeito da inclusão dos aditivos (Teste de Dunnett). Os maiores valores de digestibilidade foram alcançados pelos tratamentos que forneceram monensina e óleos essenciais ao nível de 2 e 4 g/dia. Ao contrário dos dados mostrados nesse experimento, onde o fornecimento de 1 g/dia de óleo essencial causou queda na digestibilidade da matéria orgânica, Meyer et al. (2007), trabalhando com bovinos recebendo dietas alto grão, não observaram diferenças significativas para esta variável quando utilizou 1 g/dia de um composto de óleos essenciais

(Crina Ruminants<sup>®</sup>) comparado com a administração 3 g/dia de Rumensin<sup>®</sup>. Os valores apresentados são semelhantes aos achados por Benchaar et al. (2006a) que encontraram valores médios de 70% para digestibilidade da matéria orgânica, em dietas alto grão, tanto pra animais que receberam monensina quanto para os animais que consumiram óleos essenciais.

A proteína bruta (Tabela 2) consumida não foi afetada significativamente ( $P>0,05$ ) pelos tratamentos, no entanto, os animais que receberam monensina apresentaram menor fluxo fecal em relação à média dos animais que receberam óleos essenciais, sendo o valor de monensina também inferior ( $P<0,05$ ) quando comparado com os valores dos animais que receberam 1 e 8 g/dia de óleos essenciais.

A digestibilidade aparente total da proteína, assim como ocorreu com os demais nutrientes citados, foi alterada pelos tratamentos ( $P<0,05$ ), provavelmente porque nos tratamentos que se utilizou monensina e 2 e 4 g/dia de óleos essenciais houve um maior fluxo de nitrogênio para o intestino delgado, conseqüência da diminuição na fermentação de peptídeos e aminoácidos no rúmen, em virtude da menor deaminação. A monensina influenciou positivamente a digestibilidade, não diferenciando dos tratamentos que forneceram diariamente 2 e 4 gramas de óleos essenciais. Muitos autores (Salles & Lucci, 2000; Plaizier et al., 2000; McCann et al., 2006) têm comprovado melhora na digestibilidade, em diferentes graus e de diversos nutrientes, quando a monensina é oferecida a ruminantes.

A ingestão da fibra (Tabela 3) não foi afetada pela administração dos aditivos alimentares. Estes dados corroboram com os encontrados por Segabinazzi (2008), que também não encontraram diferenças significativas quando forneceu extratos vegetais como alternativa a monensina a vacas de descarte terminadas em confinamento.

A excreção fecal da FDN foi maior para a mínima e a máxima dose de óleos essenciais na dieta (Teste de Dunnett), diferenciando significativamente ( $P<0,05$ ) dos tratamentos com níveis intermediários de óleos e ao tratamento que forneceu monensina.

Tabela 3 - Médias, equações de regressão, coeficientes de variação (CV) e teste de Dunnett para ingestão (ING), fluxo fecal (FF) e digestibilidade aparente total (DIG) da fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos não fibroso e nutrientes digestíveis totais.

	Tratamentos <sup>1</sup>					Regressão	CV (%)	Teste de Dunnett <sup>2</sup>			
	MON	OL1	OL2	OL4	OL8			MONx OL1	MONx OL2	MONx OL4	MONx OL8
Fibra em Detergente Neutra											
ING (g/dia)	1589,25	1564,36	1772,57	1655,28	1628,75	Y = 1655,24	29,28	-	-	-	-
FF (g/dia)	630,89	847,54	614,19	698,20	881,28	Y = 760,30	28,46	-	-	-	-
DIG (%)	60,30	45,82	65,35	57,82	45,90	Y = 53,72	28,34	***	-	-	***
Extrato Etéreo											
ING (g/dia)	173,49	175,25	190,51	183,01	176,55	Y = 181,33	69,24	-	-	-	-
FF (g/dia)	46,84	58,05	45,28	45,69	70,80	Y = 54,96	35,39	-	-	-	-
DIG (%)	73,00	66,88	76,23	75,03	59,90	Y = 69,51	14,15	-	-	-	***
Carboidratos Não Fibrosos											
ING (g/dia)	3106,62	3194,67	3428,70	3332,22	3207,98	Y = 3290,89	29,45	-	-	-	-
FF (g/dia)	701,25	840,34	708,81	864,57	1000,41	Y = 853,53	32,78	-	-	-	***
DIG (%)	77,43	73,70	79,33	74,05	68,81	Y = 73,97	14,15	-	-	-	***
Nutrientes Digestíveis Totais											
NDT (%)	72,00	64,51	73,99	70,48	62,04	Y = 67,76	13,99	***	-	-	***

<sup>1</sup> MON = 0,2 g/dia/animal de monensina; OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

<sup>2</sup> Teste de Dunnett: \*\*\* diferente a P<0,05

Como não houve diferença no consumo da FDN, os tratamentos que proporcionaram maiores excreções fecais, conseqüentemente, obtiveram os menores valores de digestibilidade aparente total da FDN (1 e 8 g/dia de óleos essenciais). A inclusão de 2 g/dia de monensina, 2 g/dia de óleos essenciais e 4 g/dia de óleos essenciais afetou positivamente ( $P<0,05$ ) a digestibilidade da fibra, provavelmente porque estes tratamentos conseguiram manter o pH ruminal mais elevado (Tabela 5).

Benchaar et al. (2006a), relataram não encontrar nenhuma alteração na digestibilidade aparente total da FDN em vacas em lactação suplementadas com 2 g/d de um composto de vários óleos essenciais (Crina Ruminants<sup>®</sup>), comparadas com animais não suplementados e/ou suplementados com monensina. Esta ausência de efeito corrobora com os resultados relatados por Castillejos et al. (2006), onde observaram que a adição de 5, 50 e 500 mg/L de eugenol em experimento *in vitro* não afetou a digestão da MS, FDN e FDA. No mesmo estudo, o fornecimento de timol em nível de 50 mg/L aumentou a digestão da MS, FDN e FDA, mas não foram observados efeitos em outras doses (5 e 500 mg/L). Estes resultados sugerem que o efeito dos compostos de óleos essenciais sobre a atividade microbiana no rúmen pode variar dependendo da dose e do tipo de óleo essencial, apesar de não se ter maiores esclarecimentos sobre esse fato. Desta maneira, provavelmente, o mesmo aconteceu para os níveis de 1 e 8 gramas de óleos essenciais fornecido diariamente aos animais.

Com relação ao extrato etéreo (Tabela 3), a ingestão não foi influenciada pelos diferentes tratamentos. O fluxo fecal foi afetado pelos aditivos fornecidos na dieta, onde o maior nível de fornecimento de óleos essenciais (8 g/dia) aumentou a excreção de extrato etéreo ( $P<0,05$ ) pelas fezes, quando comparado aos demais tratamentos.

A digestibilidade do extrato etéreo foi afetada positivamente ( $P>0,05$ ) por todos os tratamentos, menos pelo tratamento que forneceu o maior nível de óleo essencial. Apesar da administração de 1 g/dia não diferenciar estatisticamente do nível de 8 g/dia, este apresentou uma digestibilidade semelhante ( $P<0,05$ ) aos demais tratamentos.

Não houve diferença significativa ( $P<0,05$ ) para o consumo de carboidratos não fibrosos (Tabela 3). No entanto, o teste de Dunnett que comparou o fornecimento de monensina e o fornecimento de 8 g/dia de óleos essenciais foi significativo ( $P<0,05$ ), sendo este último o que apresentou maior valor de excreção fecal e menor valor para

digestibilidade de CNF. A média dos valores encontrados no presente experimento para digestibilidade da fração não fibrosa (75,70%) são coerentes aos encontrados na literatura com dietas alto grão (Carvalho, 1996).

Os nutrientes digestíveis totais (Tabela 3) obtiveram o comportamento da maioria dos nutrientes citados acima. Os maiores valores foram apresentados ( $P < 0,05$ ) para o tratamento que forneceu monensina e para os tratamentos que forneceram 2 e 4 g/dia do produto natural contendo óleos essenciais. Evans & Martin (2000) relataram que a administração de óleo essencial na dieta de ruminantes reduziu as concentrações de metano e de lactato, embora em doses mais elevadas reduziu também a digestão dos nutrientes e produção total dos ácidos graxos de cadeia curta, uma clara indicação que o metabolismo microbiano foi inibido. Este efeito foi atribuído à perda da integridade da membrana celular e uma redução na absorção de glicose. Essa afirmação pode explicar a provável diminuição da digestibilidade dos nutrientes do presente experimento quando foram administrados 8 g de óleos essenciais diariamente.

Acredita-se que os extratos das plantas possam estimular a produção de saliva, e dos sucos gástrico e pancreático, beneficiando a secreção enzimática e melhorando a digestibilidade dos nutrientes (Mellor, 2000). Este efeito é o mais estudado na tentativa de explicar a melhora da digestibilidade, porém pode existir a contribuição de outros mecanismos nesse processo (Hernandez et al., 2004).

#### Parâmetros Ruminais:

O pH do rúmen variou em função do tempo de forma quadrática após a alimentação para todas os tratamentos (Tabela 4), e houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos quanto a este parâmetro, sendo que o nível de óleo fornecido que apresentou um maior valor de pH ruminal foi 3,54 g/dia. As equações de regressão obtidas para pH e N-NH<sub>3</sub> apresentaram coeficiente de determinação ( $r^2$ ) bastante baixo, o que indica um comprometimento na validação das mesmas devido a uma grande variação nos dados.

Tabela 4 – Equações de regressão ajustadas para pH e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) em função dos tempos de coleta com (P <0,05)

	pH	r <sup>2</sup>
	Regressão	
MON <sup>1</sup> , OL1, OL2, OL4, OL8	$^2 Y = 4,98 + 0,22x + 0,17z - 0,009x^2 - 0,024z^2$	0,23
	NH <sub>3</sub>	
	Regressão	
MON <sup>1</sup> , OL1, OL2, OL4, OL8	$Y = -31,8525 + 11,2125x - 0,5251x^2$	0,26

<sup>1</sup> MON = 0,2 g/dia/animal de monensina; OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

<sup>2</sup> x = Horários de coleta e z = doses de óleo essencial

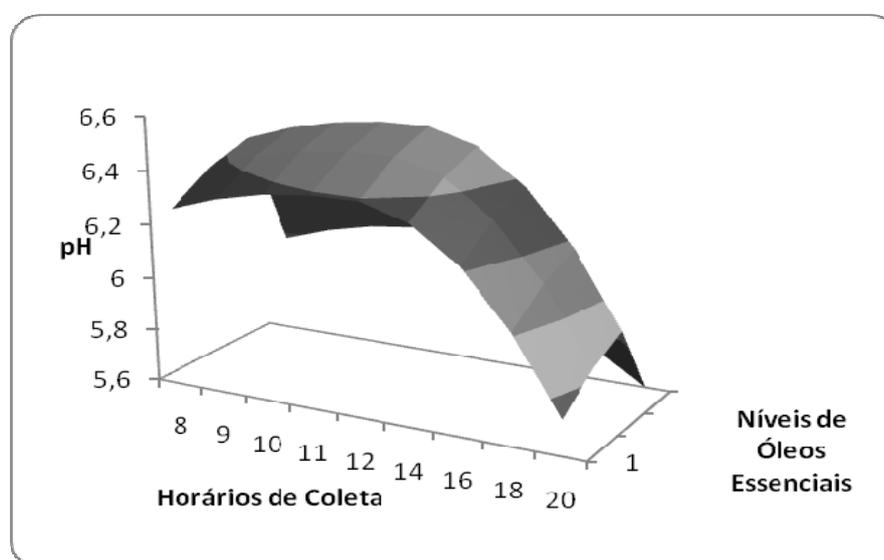


Figura 1 – Variação do pH ruminal durante o período de 12 horas após a primeira alimentação

Podemos notar que o tratamento onde foi administrado 8 g/dia de óleos essenciais obteve um pH médio abaixo de 6,00 (Tabela 5), considerado mínimo desejável, conforme Hoover (1986), Oskov (1988) e Van Soest (1994), para promover a fermentação da fibra. Esse fato, provavelmente, conferiu à baixa digestibilidade da FDN (Tabela 3).

Segundo o teste de Dunnett (Tabela 5), o tratamento que utilizou a monensina como aditivo alimentar obteve um pH ruminal significativamente superior ao tratamento que forneceu o maior nível de óleos essenciais e se manteve abaixo (P<0,05) dos tratamentos intermediários de administração de óleos essenciais, demonstrando a grande capacidade

desses aditivos em modular a fermentação ruminal. Os tratamentos que forneceram 2 e 4 g/dia de óleos essenciais aumentaram em 3,4% o pH ruminal quando comparados ao fornecimento de monensina.

Nagy & Tengerdy (1968) avaliaram a sensibilidade dos microrganismos ruminais a alguns óleos essenciais, porque alguns trabalhos indicavam que a alta ingestão desse composto resultava em problemas no aparelho digestivo de cervos selvagens. Em geral, altas doses de óleo, adicionado a culturas de bactérias *in vitro* do rúmen de veados, acarretou em redução das bactérias totais, onde houve sobrevivência de poucas espécies gram-negativas. No presente experimento, provavelmente pode estar ocorrendo uma toxidez no fornecimento do maior nível de óleo essencial (8 g/dia), fato este explicado pelos baixos valores de digestibilidade dos nutrientes e pH ruminal (Tabela 3 e Tabela 5).

Tabela 5 – Médias e teste de Dunnett para concentração de pH ruminal e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) em função dos tempos de coleta

	Tratamentos <sup>1</sup>					Teste de Dunnett <sup>2</sup>			
	MON	OL1	OL2	OL4	OL8	MONx OL1	MONx OL2	MONx OL4	MONx OL8
pH	6,17	6,17	6,43	6,34	5,94	-	***	***	***
N-NH <sub>3</sub> (mg/100mL)	22,73	23,16	22,05	22,75	23,15	-	-	-	-

<sup>1</sup> MON = 0,2 g/dia/animal de monensina; OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

<sup>2</sup> Teste de Dunnett: \*\*\* diferentes a P<0,05.

Benchaar et al. (2006a), observaram maior valor de pH ruminal em vacas suplementadas com 2 g/d de um composto com vários óleos essenciais (Crina Ruminants<sup>®</sup>) comparados com animais sem suplementação. Evans & Martin (2000) relataram ainda que a adição de 400 mg/L de timol aumentou o pH ruminal no período de 24hs em experimento *in vitro*, mas nenhum efeito foi relatado em doses mais baixas (50, 100, e 200 mg/L).

As concentrações de N-NH<sub>3</sub> não sofreram influência dos aditivos avaliados (P>0,05) em função do tempo após a alimentação (Tabela 4), e os valores variaram de 7,00 a 35,66 mg/100 mL de fluido ruminal.

Segundo Sater & Slyter (1974), o nível mínimo de N-NH<sub>3</sub> para manter a fermentação adequada e ocorrer degradação da parede celular é de 5 mg/100 mL de fluido ruminal. Analisando as médias das concentrações de nitrogênio amoniacal ao longo do período após a alimentação, para cada tratamento, observa-se que todos apresentaram níveis de N-NH<sub>3</sub> superiores a 5 mg/100 mL (Tabela 5).

Mehrez et al. (1977) recomendam que a concentração de amônia deve ser de 24 mg/dL de líquido ruminal para o máximo desaparecimento de substrato, porém os mesmos autores propuseram não ser necessário manter de forma constante, altas concentrações de amônia no líquido ruminal. No entanto, se forem considerados estes valores ou os propostos por Leng (1990) de concentração de amônia ruminal de 20 mg/dL de líquido ruminal, como adequado para um máximo consumo voluntário em condições tropicais, pode-se concluir que tanto a monensina como os óleos essenciais agem de forma adequada na fermentação ruminal, em dietas alto grão (Figura 2).

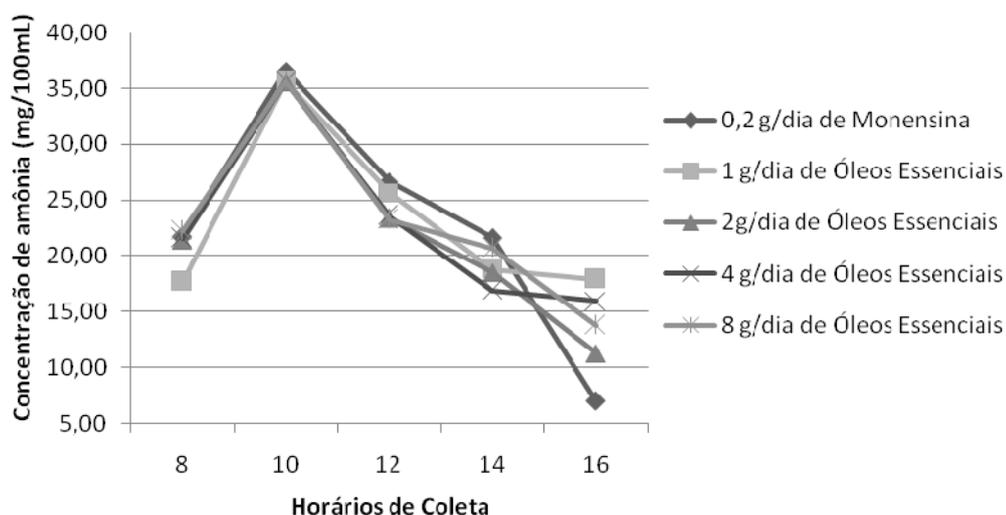


Figura 2 – Variação nas concentrações de N-NH<sub>3</sub> durante o período de 8 horas após a primeira alimentação do dia

Existem evidências, que muitos óleos essenciais reduzem o número de bactérias produtoras de amônia, a taxa de deaminação de aminoácidos e conseqüentemente, a taxa de produção de amônia, aumentando assim, a quantidade de N que chega ao intestino (McIntosh et al., 2003; Castillejo et al., 2007). Ao trabalhar com novilhos fistulados, da

raça Holandesa, Ando et al. (2003) utilizaram uma combinação de óleos essenciais e observaram diminuição na concentração de amônia ruminal e do número de protozoários dos animais tratados.

McIntosh et al. (2003) não observaram decréscimo na concentração de amônia ruminal quando a monensina foi adicionada à líquidos ruminais em experimentos *in vitro*, sugerindo que os óleos essenciais reduzem a produção de amônia no líquido ruminal por inibir a atividade de um grupo de bactérias que não é sensível à monensina. Esse grupo de bactérias, chamadas bactérias hiper-produtoras de amônia, foram originalmente identificadas por Russell et al. (1988) e caracterizadas como tendo alta atividade deaminativa e por serem responsáveis por uma proporção significativa da produção de amônia no rúmen.

Houve uma maior produção de ácido acético pelos animais que receberam 1 g/dia de óleos essenciais (Tabela 6) em relação aos animais que receberam 2 g/dia de monensina. Em compensação este último não diferenciou dos demais tratamentos. A concentração de ácido propiônico e ácido butírico não foi influenciada pelos diferentes tratamentos.

Como a produção do ácido propiônico e do ácido butírico não foi influenciada pelos diferentes aditivos, a concentração de ácidos graxos de cadeia curta totais também foi maior para o tratamento que forneceu 1 g de óleos essenciais diariamente, diferenciando significativamente ( $P < 0,05$ ) dos outros tratamentos, no entanto, a razão C2/C3 não diferiu estatisticamente entre os tratamentos.

O efeito inibidor da monensina sobre a produção de acetato e estímulo à produção de propionato foi explicado por Bergen & Bates (1984), como sendo devido à resistência à monensina proporcionada pela enzima fumarato redutase, comum nas bactérias ruminais produtoras de propionato. Entretanto, Russel & Strobel (1988) verificaram que a resistência à monensina estava mais relacionada com a presença da membrana externa presente nas bactérias gram-negativas, que agem como barreira protetora ao acesso dos ionóforos e outras macromoléculas à membrana celular.

Tabela 6 – Médias, coeficientes de variação e teste de Dunnett para concentração de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácidos graxos de cadeia curta totais e a razão ác. acético/ ác. propiônico

	Tratamentos <sup>1</sup>					CV(%)	Teste de Dunnett <sup>2</sup>			
	MON	OL1	OL2	OL4	OL8		MONx OL1	MONx OL2	MONx OL4	MONx OL8
Ácido acético (mM)	48,56	59,09	48,90	50,07	49,81	25,56	***	-	-	-
Ácido propiônico (mM)	27,01	28,93	34,22	29,64	33,17	63,85	-	-	-	-
Ácido butírico (mM)	15,38	16,64	15,35	15,86	14,74	36,05	-	-	-	-
Ácidos graxos totais	97,99	108,26	105,17	102,92	104,50	20,80	***	-	-	-
Razão C2/C3	2,18	2,31	2,04	2,37	2,25	47,19	-	-	-	-

<sup>1</sup> MON = 0,2 g/dia/animal de monensina; OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

<sup>2</sup> Teste de Dunnett: \*\*\*diferentes a P<0,05.

Benchaar et al. (2006a) trabalhando com vacas em lactação não observaram diferenças significativas na concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico, além da razão C2/C3 quando administrou 7,5 g/dia de uma composto de óleos essenciais (Crina Ruminants®) em comparação com administração de monensina.

García et al. (2007), trabalhando com experimentos *in vitro* testaram o efeito do carvacrol (princípio ativo do óleo essencial do Orégano) sobre a produção de ácidos graxos de cadeia curta comparado com o fornecimento de monensina ou sem o fornecimento de aditivo. Esses autores relataram que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) na produção total de AGCC quando foram administrados monensina ou carvacrol em nível de 250 mg/L. No entanto, níveis acima deste (500 mg/L) causaram um decréscimo na produção dos AGCC. Segundo Cardozo et al. (2006), isso ocorreu, pois extratos vegetais possuem uma atividade antimicrobiana potente que pode ter afetado a atividade microbiana ruminal. No presente experimento, doses acima de 2 g/dia de óleos essenciais, provavelmente foram suficientes para inibir as bactérias produtores de ácido acético, diminuindo assim sua concentração, e conseqüentemente a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta totais.

Apesar de variações da população microbiana e de diferenças na ingestão, a proporção ruminal de AGCC varia muito pouco com razões molares (moles de acetato:propionato:butirato) geralmente sendo próximas a 50:35:15 com dietas com alta proporção de concentrado, dependendo do pH (Owens & Goetsch, 1986).

No presente experimento a proporção acetato:propionato:butirato para o tratamento que forneceu 1 g/dia de óleos essenciais foi de 57:27:16, enquanto a média dos demais tratamentos foi de 51:33:16, considerados mais próximos ao normal pelos autores citados acima. Provavelmente o tratamento que ofereceu o menor nível de óleo essencial, não foi suficiente para atingir seu potencial máximo de ação.

#### Parâmetros Sanguíneos:

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) dos tratamentos nos níveis de NUP. O valor médio para todos os tratamentos foi de 14,72 mg de NUP/dL, considerado adequado por Swenson & Reece (1996), que consideram a faixa entre 10 e 30 mg/dL normais para bovinos.

Bortoli et al. (2007), trabalhando com novilhas recebendo um produto comercial (Rumex<sup>®</sup>) composto por vários óleos essenciais, leveduras e saponinas encontraram valores de nitrogênio uréico plasmático próximos aos encontrados no presente experimento (15,83 mg/dL).

#### Síntese de Proteína Microbiana:

A técnica de determinação de derivados de purinas para estimar a síntese microbiana assume que todos os ácidos nucleicos de origem dietética são degradados no rúmen e que, portanto, todos os ácidos nucleicos que deixam o rúmen são essencialmente de origem microbiana.

O volume urinário (Tabela 7) não apresentou diferenças significativas ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos, no entanto os valores apresentados mostram que os aditivos não influenciaram a excreção normal da urina, que segundo Gurtler et al. (1987) para um bovino adulto varia entre 5 a 10 litros/dia.

A excreção diária de alantoína foi influenciada ( $P<0,05$ ) pela inclusão de óleo ou monensina na dieta. Os tratamentos que forneceram 2 e 4 g/dia de óleos essenciais não diferiram estatisticamente do tratamento que forneceu monensina, e foram os que apresentaram maiores valores de excreção de alantoína, no entanto estes se diferenciaram ( $P<0,05$ ) dos tratamentos que ofereceram 1 e 8 g/ dia de óleos essenciais (Tabela 7). Os valores médios de alantoína foram 190,01 mmol/dia. Valores mais altos de alantoína (216,66 a 303,89 mmol/dia) foram relatados por Oliveira et al. (2001) em estudo com vacas leiteiras suplementadas com diferentes níveis de NNP. Os valores médios observados neste experimento foram superiores aos observados por Magalhães et al. (2005) que estudando diferentes níveis de uréia em dietas de novilhos encontraram valores de alantoína de 154,7; 170,7; 172,7; e 173,4 para os níveis de 0; 0,65; 1,30; e 1,95% de uréia.

A relação alantoína:derivados de purina obteve valor médio de 80%. Este valor foi coerente com Chen & Gomes (1992) que consideram que a proporção de alantoína nos derivados de purinas (DP) varia de 80 a 85%. No entanto foi inferior aos encontrados por Verbic et al. (1990) e Leão (2002) que encontraram, 84% e 86%, respectivamente.

Tabela 7 - Médias, equações de regressão, coeficientes de variação (CV) e teste de Dunnett para o volume urinário (VUR), excreção diária de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic), eficiência de síntese de proteína microbiana (Efi)

	Tratamentos <sup>1</sup>					Regressão	CV (%)	Teste de Dunnett <sup>2</sup>			
	MON	OL1	OL2	OL4	OL8			MONxOL1	MONxOL2	MONxOL4	MONxOL8
VUR (L/dia)	7,66	8,38	8,92	7,20	7,41	Y = 7,98	47,73	-	-	-	-
ALA (mmol/dia)	203,25	156,23	201,02	201,80	148,07	Y = 176,78	53,06	-	-	-	-
AcU (mmol/dia)	45,72	43,62	50,85	46,36	40,25	Y = 45,27	47,65	-	-	-	-
DP (mmol/dia)	248,97	199,85	251,87	248,16	188,24	Y = 222,03	73,22	-	-	-	-
Nmic (g/dia)	136,34	92,41	134,60	133,90	94,26	Y = 113,90	52,36	-	-	-	-
Efi (g PBmic/kg NDT)	155,87	111,91	156,07	159,28	109,24	Y = 134,13	42,68	-	-	-	-

<sup>1</sup> MON = 0,2 g/dia/animal de monensina; OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

<sup>2</sup> Teste de Dunnett: \*\*\*diferente a P<0,05.

A excreção diária de ácido úrico não foi influenciada pelos tratamentos (Tabela 7), apresentando uma média de 10,64 mmol/dia, o que representou 20% do total dos derivativos de purina. Chen & Gomes (1992) consideram que a proporção de ácido úrico nos derivados de purinas (DP) varia de 15 a 20% e são muito constantes no mesmo animal, mas variam entre animais, entretanto valores muito variáveis são encontrados na literatura, como o de Chizotti et al. (2006), que trabalhando com novilhos em crescimento encontrou média de 8,25% de ácido úrico nos DP.

Em relação aos derivados de purina e estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos não houve efeito dos diferentes aditivos ( $P > 0,05$ ). Os derivados de purina urinários compreendem ácido úrico e alantoína quando são excretados por bovinos e bubalinos. Isto porque bovinos e bubalinos têm uma alta atividade de xantina oxidase na mucosa intestinal, degradando, portanto, as bases púricas a seus derivados mais distantes, ácido úrico e alantoína.

A eficiência de síntese microbiana foi similar ( $P < 0,05$ ) quando foi fornecido monensina ou óleos essenciais em nível de 2 e 4 g/dia, demonstrando a grande eficiência dos óleos na maximização da síntese microbiana (Tabela 7). Este fato pode ter acontecido, provavelmente, pela inibição dos protozoários, grandes predadores das bactérias. Os valores médios para eficiência de síntese de proteína microbiana observados neste experimento, foram semelhantes aos observados por Oliveira et al (2001) e Rennó et al (2003). No entanto, foram superiores aos observados por Moraes (2003), que trabalhando com novilhos mestiços recebendo níveis crescentes de uréia nos suplementos (0; 1,2; 2,4; 3,6% na base da matéria natural) obteve valor médio de 104 g de PBmic/kg de NDT.

Yang & Russell (1993), ao alimentarem vacas não-lactantes com feno e diferentes níveis de farelo de soja observaram que apesar da monensina não ter aumentado os níveis de proteína solúvel, peptídeos e aminoácidos no líquido ruminal, ela aumentou a concentração de proteína bacteriana.

Os óleos essenciais atuam na inibição do desenvolvimento dos protozoários além de maximizar a eficiência de síntese de proteína microbiana (Lambert et al., 2001). Segundo Van Der Merwe et al. (2001) a diminuição ruminal da concentração de amônia pode ser um indicativo do aumento da síntese de proteína microbiana, além do pH ruminal mais elevado.

### Cinética Ruminal:

Os valores médios de taxas de diluição da digesta ruminal foi 5,78%/h (Tabela 8). Os dados encontrados corroboram com Owens & Goetsch (1986) que relataram taxas de passagem de fluidos de 8,2%/h entre 0 e 50% de concentrado; 6,7%/h entre 50 e 80%; e 5,2%/h acima de 80%, sendo que o presente experimento apresentou 80% de concentrado na dieta. Apesar da inclusão de monensina não ter diferenciado da inclusão dos óleos, Lemenager et al. (1978) demonstraram que a monensina diminuiu a taxa de passagem sólida e o volume de líquido ruminal. Entretanto, Rogers & Davids (1982) mostraram que a monensina não alterou o volume de líquido ruminal, a taxa de passagem de líquidos pelo rúmen e o fluxo total de líquidos quando novilhos foram alimentados com dieta composta por 50% de volumoso.

Alguns estudos (Molero et al., 2004; Newbold et al., 2004) sugerem que o período experimental deveria ser no mínimo 28 dias para que possa observar efeitos mais relevantes do uso dos óleos essenciais no metabolismo animal, podendo este fato ter sido um provável limitante para a ação dos óleos essenciais na cinética ruminal no presente experimento, que teve 21 dias de período experimental.

Segundo Colluci (1984), têm sido relatados problemas com a estimativa do volume de líquido ruminal nos trabalhos em que se utilizaram altos níveis de concentrado na dieta, levando a alterações na viscosidade do conteúdo ruminal e, conseqüentemente, na mistura instantânea do indicador, podendo fazer com que a concentração desse indicador nos primeiros tempos de coleta seja menor que nos tempos finais.

No presente experimento o volume ruminal não foi influenciado pelos tratamentos e obteve um valor médio de 58,90 L (Tabela 8), que corresponde a 21,80% do PV, próximos aos 15 a 21% relatados por Owens & Goetsch (1986) e 20,53% citados por Berchielle (1994) para o volume ruminal de bovinos.

O tempo de retenção no rúmen-retículo encontrado neste trabalho foi superior ao encontrado por Lalles et al. (1991) que alimentando bezerros holandeses com concentrado à base de farelo de soja, registraram tempo médio de trânsito de 12,86 horas. No entanto foi inferior aos relatos de Moloney et al. (1994) que realizaram experimento com novilhos

holandeses alimentados com feno de cevada e níveis crescentes de concentrado à base de farelo de soja peletizado, relatando tempo médio de retenção de 27,2 horas.

Tabela 8 - Médias, equações de regressão, coeficientes de variação (CV) e teste de Dunnett para taxa de diluição (Kp), volume ruminal (Vol) e tempo de retenção (TRet)

	Tratamentos <sup>1</sup>					Regressão	CV (%)	Teste de Dunnett <sup>2</sup>			
	MON	OL1	OL2	OL4	OL8			MONx OL1	MONx OL2	MONx OL4	MONx OL8
Kp (%/h)	5,45	6,39	5,84	6,15	5,95	Y = 6,08	45,58	-	-	-	-
Vol (L)	57,24	61,52	52,78	65,14	63,78	Y = 60,56	55,63	-	-	-	-
TRet (Hs)	18,34	15,65	17,12	19,04	16,81	Y = 17,16	45,68	-	-	-	-

<sup>1</sup> MON = 0,2 g/dia/animal de monensina; OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

<sup>2</sup> Teste de Dunnett:\*\*\*diferente a P<0,05.

## **Conclusões**

O uso de óleos essenciais, em dietas alto grão para bovinos em crescimento, utilizando o produto natural Essencial (Oligobasics<sup>®</sup>), conferiu efeitos semelhantes a monensina quanto a digestibilidade aparente total dos nutrientes, controle do pH ruminal, concentrações de amônia e ácidos graxos de cadeia curta, nitrogênio uréico plasmático, eficiência de síntese microbiana e cinética ruminal. Os melhores valores foram demonstrados quando se administrou 4 g/dia de óleos essenciais.

### Referências Bibliográficas

- ANDO, S.; NISHIDA, T.; ISHIDA, M. et al. Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. **Livestock Production Science**, v. 82, p. 245-248, 2003.
- A.O.A.C. (Association of Official Agricultural Chemists). **Official Methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 15.ed. Washington, v.2. 1990.
- BAILE, C.A.; McLAUGHLIN, C.L.; POTTER, E.L. et al. Feeding behavior changes of cattle during introduction of monensin with roughage or concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.48, n.6, p.1501-1508, 1979.
- BENCHAAR, C., H. V. PETIT, R. BERTHIAUME, D. R. OUELLET, and J. CHIQUETTE. Effects of essential oil supplement on ruminal fermentation, rumen microbial populations and in sacco degradation of dry matter and nitrogen in the rumen of lactating dairy cows. Canada. **Journal Animal Science**. 83. p.637. (Abstr.). 2003.
- BENCHAAR, C., H. V. PETIT, R. BERTHIAUME, T. D. WHYTE, and P. Y. CHOUINARD. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. **Journal Dairy Science**. 89. p.4352-4364. 2006a.
- BENCHAAR, C., J. L. DUYNISVELD, and E. CHARMLEY. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. Canada. **Journal Animal Science**. 86. p.91-96. 2006b.
- BERCHIELLI, T.T. **Efeito da relação volumoso:concentrado sobre a partição da digestão, a síntese de proteína microbiana, produção de ácidos graxos voláteis e desempenho de novilho sem confinamento**. Belo Horizonte: UFMG, 1994. 103p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais.
- BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, n.61, p.1465-1483. 1984.
- BRUGALI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.167-182. 2003.
- CALSAMIGLIA, S., M. D. STERN, and J. L. FIRKINS. Comparison of nitrogen-15 and purines as microbial markers in continuous culture. **Journal Animal Science**, 74. p.1375-1381. 1996.

- CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G.. Métodos de análises de alimentos. Piracicaba: FEALQ, p. 135. 2004.
- CARDOZO, P.W.; CALSAMIGLIA, S. et al., Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. **Journal of Animal Science**. v.83, n.1, p.2572-7579. 2005.
- CARDOZO, P.W. et al. Effects of alfafa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. **Journal of Animal Science**. V.84, n.10, p.2801-2808. 2006.
- CARVALHO, A.U. **Níveis de concentrado na dieta de zebuínos: consumo, digestibilidade e eficiência microbiana**. Viçosa, MG: UFV. 1996. 113p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- CASTILLEJOS, L., S. CALSAMIGLIA, A. FERRET, and R. LOSA. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. **Animal Feed Science Technology**, 119. p.29–41. 2006.
- CASTILLEJOS, L., S. CALSAMIGLIA, A. FERRET, and R. LOSA. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oils compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science Technology** 132. p.186–201. 2007.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details. **International feed research unit**. Aberdeen: Rowett Research Institute, p. 21. 1992.
- CHEN, X.B., MEJIA, A.T., KYLE, D.J. et al. Evaluation of the use of purine derivative: creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal Agriculture Science**, 125:137-143. 1995.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I. et al. Casca de algodão em substituição parcial à silagem de capim-elefante para novilhos. 1. Consumo, degradabilidade e digestibilidade total e parcial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2093-2102, 2006.
- COLUCCI, P.E. **Comparative digestion and digesta kinetics in sheep and cattle**. 1984. 230 f. Thesis (Doctor of Philosophy) - University of Guelph, Ontario.
- EVANS, J.D.; MARTIN, S.A. Effects of thymol on ruminal microorganisms. **Current Microbiology**, v.41, p.336–340, 2000.

- FANDIÑO, I et al., Anise and capsicum as alternatives to monensina to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high-concentrate diet. **Animal Feed Science and Technology**. 2007
- GRACÍA, P. et al., Potential of carvacrol to modify in vitro rumen fermentation as compared with monensin. **The Animal Consortium** , v.1. p. 675-680. 2007.
- GÜRTLER, H. et al. **Fisiologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, p. 612. 1987.
- HERNÁNDEZ, F.; MADRID, J.; GARCIA, V. et al. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, v.83, p.169-174, 2004.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal Dairy Science**, 69(10). p.2755-2766. 1986.
- LALLES, J.P., PONCET, C. Rate of passage of digesta during and after weaning in calves fed concentrate diets containing pea or soya-bean meal. **Livestock Production Science**, 24(4):333-345. 1990.
- LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.J. A Study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal Applied Microbiology**., v.91, p.453-462, 2001.
- LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. 57p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais.
- LEMENAGER, R. P. et al. Monensin effects on rumen turnover rate, twenty-four hour VFA pattern, nitrogen components and cellulose disappearance. **Journal Animal Science**., Savoy, v. 47, n. 1, p. 255-261, 1978.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, v.3, p.277-303, 1990.
- MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Desempenho, composição física e características da carcaça de novilhos alimentados com diferentes níveis de casca de algodão, em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2005.
- McCANN, M.A.; CRADDOCK, B.F.; PRESTON, R.L. et al. Digestibility of cotton plant by-product diets for sheep at two levels of intake. **Journal of Animal Science**, v.68, n.2, p.29-41, 2006.

- McINTOSH, F.M. et al. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p. 5011–5014, 2003.
- MEHREZ, A. Z.; ORSKOV, E. R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, v.38, n.3, p.437–443, 1977.
- MOLERO, R., M. IBARS, S. CALSAMIGLIA, A. FERRET, and R. LOSA. Effect of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate rations. **Anim. Feed Sci. Technol.** 114:91–104. 2004.
- MELLOR, S. Herbs and spices promote health and growth. **Pig Progress**, v.16, n.4, p.18–21, 2000.
- MOLONEY, A.P., WILSON, R.K., MOLONEY, B.C. Rumen fermentation and digesta passage in ruminants fed cimaterol. **Animal Feed Science Technology**, 46(3/4) p.215–227. 1994
- MORAES, E.H.B.K. **Suplementos múltiplos para recria e terminação de novilhos mestiços em pastejo durante os períodos de seca e transição seca-águas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 70p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- NAGY, J. G., and R. P. TENDERDY. Antibacterial action of essential oils of *Artemisia* as an ecological factor. II. Antibacterial action of the volatile oils of *Artemisia tridentata* (big sagebrush) on bacteria from the rumen of mule deer. **Appl Microbiology**. 16: p.441–444. 1968.
- NEWBOLD, C. J., F. M. MCINTOSH, P. WILLIAMS, R. LOSA, and R. J. WALLACE. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Anim. Feed Sci.** 114:105–112. 2004.
- OLIVEIRA, A.S., VALADARES, R.F.D., VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite em vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista brasileira de zootecnia**, 30(4): p.1358-1366. 2001.
- ØRSKOV, E.R. *Nutricion proteica de los ruminantes*. Saragoza: Ed. Acribia. p. 178. 1988.
- OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminant fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The ruminant animal digestive physiology and metabolism**. New Jersey: Prentice Hall, p.145-171. 1986.

- PLAIZIER, J.C.; MARTIN, A.; DUFFIELD, T. et al. Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.12, p.2918-2925, 2000.
- PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Influence of dietary spices or their active principles on digestive enzymes of small intestinal mucosa in rats. **International Journal Food Sciences and Nutrition**, v.47, p.55-59, 1996.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40. 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: 2003. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.
- ROGERS, J. A.; DAVIS, C. L. Rumen volatile fatty acid production and nutrient utilization in steers fed a diet supplemented with sodium bicarbonate and monensin. **Journal Dairy Science**, Savoy, v. 65, n. 6, p. 944-952, 1982.
- RUSSELL, J.B., O'CONNOR, J.D., FOX, D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal. Animal Science**, 70: p.3551-3561. 1988.
- RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J.; CHEN, G. The enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.872-877, 1988.
- SALLES, M.S.V.; LUCCI, C.S. Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. 2. Digestibilidade e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.582- 588, 2000.
- SAMBALIAH, K.; SRINIVASAN, K. Secretion and composition of bile in rats fed diets containing spices. **Journal of Food Science and Technology**, v.28, p.35-38, 1991.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT®. **User's guide: statistics, versão 8.1**. 4. ed., v.2, Cary: SAS Institute, 2000.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal Nutrition**, v.32, p.199, 1974.
- SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, n.6, p.1518-1527, 1984.
- SILVA, D.J. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, p. 166.1981.

- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; Van SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 855 p. 1996.
- TAMMINGA, S.A Review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.12, p.3112-3124, 1996.
- VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JUNIOR, V.R. et al. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2 ed. Viçosa:UFV. p.329. 2006.
- VAN DER MERWE, B.J.; DUGMORE, T.J.; WALSH, K.P. The effect of flavophospholipol (Flavomycin) on milk production and milk urea nitrogen concentration of grazing dairy cows. **South Africa Journal of Animal Science**, v.31, n.2, p.101-105, 2001.
- VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N. (Ed.) **The rumen microbial ecosystem**. Essex: Elsevier, p.387-443. 1988.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca, New York: Cornell. p.476. 1994.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-246, 1990.
- VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. Viçosa, MG: UFV, 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- WALLACE, R.J. et al., Enzymes, direct-fed microbials and plant extract in ruminant nutrition, **Animal Feed Science and Technology**. 2007.
- WILLIAMS, C.H., DAVID, D.J., IISMA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **Journal Agriculture Science**, 59(3),p.381-385. 1962.
- YANG, C.M.J.; RUSSELL, J.B. The effect of monensin supplementation on ruminal ammonia accumulation in vivo and the numbers of amino acid-fermenting bacteria. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3470-3476, 1993.

## **CAPÍTULO II – DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MAMONA E CAJÚ EM DIETAS COM ALTO VOLUMOSO PARA BOVINOS**

**Resumo:** Objetivou-se avaliar os efeitos do fornecimento de diferentes níveis de óleos essenciais de mamona e cajú (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>), em dietas com alto volumoso para bovinos, sobre o consumo voluntário, coeficiente de digestibilidade aparente total dos nutrientes, parâmetros ruminais e sanguíneos, síntese de proteína microbiana e cinética ruminal. Foram utilizados quatro novilhos da raça Holandês Preto e Branco com 230 kg  $\pm$  41 kg de peso vivo, e implantados com cânula ruminal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4 x 4. Os tratamentos consistiram no fornecimento de: 1 g/dia de Óleos Essenciais (OL1), 2 g/dia de Óleos Essenciais (OL2), 4 g/dia de Óleos Essenciais (OL4) e 8 g/dia de Óleos Essenciais (OL8). O consumo não foi influenciado ( $P>0,05$ ) pelos tratamentos. A inclusão de diferentes níveis de óleos essenciais não mostrou diferença ( $P>0,05$ ) na digestibilidade aparente total da MS, MO, PB, FDN, EE e CNF. O NDT apresentou um comportamento quadrático em relação aos diferentes níveis de óleos essenciais, sendo o melhor valor encontrado com o fornecimento de 3,10 g/dia de óleos essenciais. Os diferentes níveis de óleos essenciais não alteraram ( $P>0,05$ ) o pH ruminal, amônia ruminal, a concentração de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácidos graxos de cadeia curta totais, assim como o nitrogênio uréico plasmático. Os diferentes níveis de óleos essenciais não alteraram ( $P>0,05$ ) a síntese de proteína microbiana, a taxa de diluição, o volume urinário e o tempo de retenção do alimento. Em dietas a base de volumoso para bovinos em crescimento, utilizando o produto natural Essential o melhor nível encontrado foi entre 3,1 g/dia.

**Palavras chave:** aditivos, cajú, extratos de plantas, mamona, ruminantes, volumoso

## **DIFFERENT LEVELS OF CASTOR AND CASHEW ESSENTIAL OILS IN HIGH FORAGE DIETS FOR STEERS**

**Abstract:** This research was conducted to study the effects of different levels of castor and cashew essential oil (Essential - Oligobasics<sup>®</sup>) in steers high forage diets, on voluntary intake, total apparent digestibility coefficient of nutrients, rumen and blood metabolites, microbial protein synthesis and ruminal kinetic. Four Holstein steers weighing 230 kg  $\pm$  41 kg of live weight and implanted with ruminal cannula were used. The experimental design was a Latin square 4 x 4, and treatments consisted in: 1 g/d of Essential Oil (OL1), 2 g/d of Essential Oil (OL2), 4 g/d of Essential Oil (OL4) and 8 g/d of Essential Oil (OL8). Intake was not affected ( $P>0.05$ ) for treatments. The inclusion of essential oil did not show ( $P>0.05$ ) different values of total apparent digestibility of DM, OM, CP, NDF, EE and NFC. TDN showed a quadratic behavior and the best level of essential oil was of 3.10 g/d. The different levels of essential oil did not affect ( $P>0.05$ ) the pH, ruminal ammonia production, total fatty acid concentration, the ratio acetic acid/propionic acid and plasma urea nitrogen. Allantoin concentration did not show ( $P>0.05$ ) different values, as well as purines derivative and microbial protein synthesis. Additives did affect ( $P>0.05$ ) rate of passage and retention time of feed. In diets high forage, using the natural product Essential the best values were when administered 3.1 g/d of essential oil.

**Key words:** additives, cashew, castor, plants extract, ruminants, forage

## Introdução

A utilização de extratos vegetais na alimentação, tanto humana quanto animal está associada com o início do conhecimento e domínio das propriedades terapêuticas das plantas. Nos últimos anos, o avanço no conhecimento da extração e das propriedades de tais extratos leva a uma crescente adoção dos conceitos de produtos nutracêuticos e fitoterápicos. Ao mesmo tempo, a pressão de grupos organizados de consumidores, instituições governamentais e centros de pesquisa atuam na substituição ou proibição de fármacos sintéticos de uso comum na nutrição animal, abrindo possibilidade da adoção de extratos vegetais específicos com função aditiva ou substituta de tais fármacos (Burt, 2004).

O uso de extratos vegetais na nutrição de animais de produção parte da mesma lógica da nutrição mediterrânea: o uso de condimentos de diversas espécies vegetais, para exercer poder de palatabilidade e atratividade ao alimento, ao mesmo tempo em que possui propriedades de proteção aos vasos sanguíneos, desintoxica o organismo e eleva o status antioxidante (Halvorsen et al., 2002; Dragland et al., 2003).

Existem diversos compostos químicos que estão presentes nos extratos vegetais, variando quanto a sua forma e participação. Entre eles, temos: óleos essenciais, saponinas, substâncias picantes, substâncias amargas, mucilagens, flavonóides, entre vários outros presentes em menores concentrações.

As pesquisas utilizando os compostos químicos provenientes de extratos vegetais, isolados ou em sinergia, ou mesmo a utilização de extratos vegetais na nutrição e manejo de ruminantes tornou-se importante nos últimos anos, apesar dos dados obtidos ainda não serem conclusivos. Parte dos trabalhos de investigação da ação dos extratos vegetais no metabolismo dos ruminantes refere-se, principalmente, a atuação dos extratos no ambiente ruminal.

Nos últimos anos, uma série de estudos tem sido dedicada a investigar as potencialidades da utilização de plantas e extratos vegetais como alternativas que substituísse os antibióticos na nutrição de ruminantes.

Mais recentemente, óleos essenciais têm atraído atenção para as suas potencialidades como substituto de antibióticos promotores do crescimento na pecuária (Wallace, 2004).

Óleos essenciais oriundos de uma variedade de fontes alteraram o crescimento bacteriano e o metabolismo de vários tipos de bactérias, incluindo bactérias ruminais (Wallace, 2004). No entanto, muitas pesquisas realizadas com óleos essenciais têm sido baseadas em laboratório (ou seja, incubação *in vitro*) e em períodos experimentais de curto prazo (McIntosh et al., 2003; Newbold et al., 2004; Castillejos et al., 2005).

Este trabalho foi conduzido para avaliar os efeitos do uso de diferentes níveis de óleos essenciais de mamona e cajú, em dietas com alto volumoso sobre o consumo, digestibilidade aparente total dos nutrientes, parâmetros ruminais, parâmetros sanguíneos, síntese de proteína microbiana e cinética ruminal.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Iguatemi, localizada no distrito de Iguatemi e no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (DZO), ambos pertencentes à Universidade Estadual de Maringá (UEM), e no Laboratório de Bromatologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz” – ESALQ em Piracicaba-SP, no período de outubro de 2007 a julho de 2008.

Foram utilizados quatro novilhos da raça Holandês Preto x Branco pesando em média  $230 \pm 41$  kg de peso vivo (PV). Os animais foram alojados em baias individuais cobertas, com  $8,75 \text{ m}^2$  de área útil, dotadas de dois comedouros individuais e bebedouro automático. As baias eram limpas todos os dias e lavadas uma vez por semana, e os bebedouros lavados diariamente, assegurando assim, o fornecimento de água de boa qualidade. As cânulas de rúmen eram verificadas e limpas diariamente para garantir a higiene dos animais. Os animais foram vacinados e vermifugados antes do início do período experimental.

Os animais receberam a mesma dieta basal, dividida em duas refeições diárias (8:30hs e 16:30hs), no entanto, os óleos essenciais foram fornecidos misturados ao suplemento do primeiro trato para garantir a ingestão dos seguintes tratamentos:

OL1 = 1 g/dia de Óleos Essenciais (Essential - Oligobasics®)

OL2 = 2 g/dia de Óleos Essenciais (Essential - Oligobasics®)

OL3 = 4 g/dia de Óleos Essenciais (Essential - Oligobasics®)

OL4 = 8 g/dia de Óleos Essenciais (Essential - Oligobasics®)

Os períodos experimentais tiveram a duração de 21 dias, com quatro dias de coleta de amostras (alimentos, sobras, fezes, urina, sangue e líquido ruminal) realizadas no período compreendido entre o 18º e 21º dias. A quantidade de alimento fornecido foi calculada e ajustada diariamente de modo a permitir aproximadamente 10% de sobras no

cocho. As sobras foram recolhidas e pesadas todos os dias, antes do fornecimento do primeiro trato, para determinação do consumo diário. Os alimentos foram amostrados no preparo das rações.

Os alimentos utilizados na composição da dieta experimental foram: feno de braquiária (*Brachiaria humidicola* cv. Lanero), grão de milho moído, farelo de soja, uréia, sulfato de amônio e suplemento mineral. A proporção volumoso: concentrado foi de 80:20.

A composição química e percentual dos alimentos e da dieta experimental está mostrada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química e percentual dos alimentos e da dieta experimental (%MS)

Alimentos	Composição dos alimentos				Composição da
	NDT	PB	FDN	EE	Dieta
Feno de Braquiária	50,00	5,00	80,22	1,78	80,00
Milho Moído	87,00	9,00	13,98	4,07	14,25
Farelo de Soja	81,50	49,00	14,62	1,71	3,95
Uréia		281,0			0,89
Sulfato de Amônio		119,0			0,02
Suplemento Mineral					0,89
NDT					55,60
PB					9,75
FDN					66,75
EE					2,07

Fonte: Valadares Filho et al. (2006)

Para a determinação da digestibilidade aparente total dos nutrientes foi efetuada coleta de fezes na ampola retal (50 g), no 18º e 20º dia de cada período experimental, duas vezes ao dia em períodos alternados a cada 4 horas. As amostras de alimentos, sobras e fezes foram armazenadas a -20°C. Após o término de cada período de coleta, foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas em peneiras de crivo de 1mm, homogeneizadas para confecção de amostras compostas por animal para cada período.

O óxido de cromo e o cobalto-EDTA foram utilizados como indicadores externos para determinar a produção fecal e a taxa de diluição, respectivamente, sendo o óxido de cromo colocado junto ao aditivo no horário de alimentação da manhã, em uma dose diária de 10,0 g, a partir do 7º dia de cada período.

As determinações dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) foram realizados, conforme os procedimentos da AOAC (1990); fibra em detergente neutro (FDN) conforme Van Soest et al. (1991) e o teor de cromo foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica, conforme técnica descrita por Willians et al. (1962), e usado juntamente com a concentração de nutrientes para determinar o fluxo de nutrientes para as fezes.

Os carboidratos não fibrosos foram calculados pela seguinte equação (Sniffen et al., 1992):  $CNF = 100 - (\%FDN + \%PB + \%EE + \%MM)$ .

Os nutrientes digestíveis totais das dietas foram calculados segundo Sniffen et al. (1992):  $NDT = PBD + FDND + (EED \times 2,25) + CNFD$

Durante o 21º dia, foram coletadas, via cânula ruminal, amostras de líquido ruminal (aproximadamente 150 mL) para determinação do pH, concentração de N amoniacal, concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e concentração de Cobalto-EDTA.

A primeira coleta era iniciada imediatamente antes do fornecimento da primeira refeição do dia, sendo esta coletada no tempo 0 e as próximas 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 e 14hs após a primeira alimentação. Após cada coleta de líquido ruminal, o pH era medido imediatamente com auxílio de um peagâmetro digital (Digimed DM20).

Para análise de N amoniacal uma alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi acidificada com 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:1) e armazenado a -20° C, para posterior análise de N amoniacal. O líquido ruminal foi descongelado em temperatura ambiente e posteriormente centrifugado a 3000 x g por 15 minutos. A concentração de N amoniacal das amostras de líquido ruminal foi determinada pela técnica de Ferner (1965) modificada por Vieira (1980).

Para análise de AGCC foi armazenado imediatamente a -20°C aproximadamente 50 mL de líquido ruminal para posterior análise no Laboratório de Bromatologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”. Para determinação dos AGCC, as amostras sofreram centrifugação a 15.000 g (4°C), durante 50 minutos, sendo analisadas de acordo

com Campos et al. (2004) em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC), equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett Packard 6890 Series Injector). O padrão interno utilizado foi o ácido 2-metilbutírico sendo acrescentado, em cada tubo para leitura em cromatógrafo, 100µl do padrão interno, 800µl da amostra e 200µl de ácido fórmico. Uma mistura de ácidos graxos de cadeia curta com concentração conhecida foi utilizada como padrão externo para a calibração do integrador.

Para análise de cobalto-EDTA foi armazenado imediatamente a -20°C aproximadamente 50 mL de líquido ruminal para posterior análise. Para determinação do volume ruminal e taxa de passagem de líquido, ministrou-se 30 g do complexo cobalto ácido etileno diamino tetra acético (Co-EDTA), diluído em 500 mL de água deionizada, antes da primeira refeição do último dia do período experimental. A determinação do cobalto foi feita por espectrofotometria de absorção atômica conforme Willians et al. (1962).

Para ajuste aos dados das concentrações de cobalto nas amostras de líquido ruminal, foi utilizado o modelo exponencial unicompartimental relatado por Colucci (1984), cuja expressão é:  $Y = A * e^{-k * t}$ . em que: “Y” e “A” (ppm) referem-se às concentrações do indicador nos tempos “t” e zero, respectivamente; e Kp (/h) corresponde à taxa constante de diluição ou taxa de passagem da fase líquida no rúmen.

O volume de fluído ruminal (V, litros) foi estimado a partir da relação entre a quantidade de cobalto administrada (mg) e o valor de “A” estimado pelo modelo. O tempo de retenção (TRet, h) foi calculado como a recíproca da taxa de passagem da fase líquida no rúmen (Kp).

Foram coletadas duas amostras spot de urina, no 19º e 20º dia de cada período experimental, entre 3 e 4 horas após o fornecimento dos alimentos (pela manhã), durante micção espontânea. Imediatamente após a coleta a urina foi homogeneizada e foi medido o pH por meio de um peagâmetro digital (Digimed DM20). Em seguida, foi filtrada através de filtros de papel e alíquotas de 15 mL foram diluídas imediatamente em 135 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,036 N (Chen et al., 1995). Estas amostras tiveram o pH ajustado para valores inferiores a 3, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do

ácido úrico, e foram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises de creatinina, alantoína e ácido úrico.

A partir da excreção média de creatinina, obtida em experimentos com bovinos da raça Holandesa, com peso vivo médio 280 kg, que foi de 27,36 mg/kg de PV (Rennó, 2000), e da concentração de creatinina (mg/L) na amostra spot de urina, foi estimado o volume diário de urina. Esse volume foi utilizado para estimar as excreções diárias de alantoína e ácido úrico de cada animal.

As análises de alantoína na urina foram feitas pelo método colorimétrico, conforme a técnica de Fujijara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes, (1992). A estimativa de concentração de creatinina e ácido úrico na urina foi realizada utilizando-se kits comerciais (Labtest).

Foram coletadas amostras de sangue no 19º e 20º dias de cada período, três horas após a primeira refeição, por punção da veia jugular, utilizando-se a heparina como anticoagulante. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 2500rpm e o plasma foi transferido para tubos eppendorf. O plasma resultante foi armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior análise de N-uréia plasmática utilizando-se kits comerciais (Gold Analisa).

O experimento foi conduzido em delineamento experimental em quadrado latino 4 x 4. A análise de variância foi realizada utilizando a metodologia de modelos mistos do pacote estatístico SAS (2000). Para as variáveis repetidas no tempo foi considerado também o efeito de hora e da interação entre hora e tratamento.

Os efeitos dos níveis de inclusão dos óleos essenciais foram analisados por modelos de regressão, assim como os efeitos de tempo. O modelo matemático utilizado inclui os efeitos de período e tratamento, e de animal, que foi considerado como aleatório.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}$$

onde:

$\mu$  = média dos tratamentos;

$A_i$  = efeito do animal  $i$ , variando de 1 a 4;

$P_j$  = efeito do período  $j$ , variando de 1 a 4;

$T_k$  = efeito do tratamento  $k$ , variando de 1 a 4;

$e_{ijk}$  = erro aleatório.

## Resultados e Discussão

### Consumo e Digestibilidade Aparente Total dos Nutrientes

Os diferentes níveis de inclusão de óleos essenciais não influenciaram ( $P>0,05$ ) o consumo de matéria seca, sendo o consumo médio de 1,97% do peso vivo (Tabela 2).

Segundo Aroeira (1997), o baixo consumo de animais se alimentando de dietas volumosas é explicado pelo controle físico no rúmen dado pela distensão do rúmen, que é mais evidente em forragens de clima tropical, devido à maior percentagem de parede celular acumulada mais rapidamente nas forrageiras tipo C4. No entanto, a limitação no consumo não pode ser explicada pela demanda energética dos animais e sim pelo efeito de enchimento do rúmen, já que o teor de FDN do feno utilizado estava acima dos 50% a 60% relatados por Mertens (1987). Segundo o autor citado anteriormente, somente quando o teor de FDN está abaixo dos níveis expostos, o consumo é limitado pela demanda energética dos animais e não pelo efeito de enchimento do rúmen.

O consumo médio de MS dos animais em relação ao peso metabólico foi de 76,65 g MS/ Kg  $PV^{0,75}$ . Os resultados encontrados neste experimento aproximam-se aos encontrados por Santos (2004), que trabalhando com concentrados energéticos protéicos em pastagem tropical, observou variação de 57,68 a 87,88 g MS/Kg de  $PV^{0,75}$ . Preston & Leng (1987) afirmam que este parâmetro pode variar de 30 a 80 g MS/Kg de  $PV^{0,75}$ .

Relatos sobre a ação dos óleos essenciais no consumo de MS são bastante contraditórios. Segundo Madri et al. (2003), Denli et al. (2004) e Alcicek et al. (2004) a adição de óleos essenciais na dieta maximizou o consumo dos animais. Da mesma forma, Cardozo et al. (2005), testando os efeitos do óleo essencial da pimenta (*Capsicum annum*), observaram aumento na ingestão de água e de matéria seca. Os autores afirmam que este efeito é benéfico em situações onde o consumo de MS é comprometido (chegada ao confinamento, stress térmico, etc). Ao contrário desses, Hernandez et al. (2004) e Botsologlu et al. (2004) relatam que os óleos essenciais não interferiram no consumo de MS.

Tabela 2 – Médias, equações de regressão e coeficientes de variação (CV) para ingestão (ING) e coeficiente de digestibilidade aparente total (CDAT) da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais

	Tratamentos <sup>1</sup>				Regressão	CV (%)
	OL1	OL2	OL4	OL8		
Matéria Seca						
ING (g/dia)	4501,06	4642,50	4557,59	4406,12	Y = 4526,82	12,99
CDAT (%)	51,46	58,31	52,36	49,71	Y = 52,96	13,50
Matéria Orgânica						
ING (g/dia)	4247,33	4385,13	4292,00	4149,26	Y = 4268,43	13,17
CDAT (%)	52,05	60,24	53,48	51,62	Y = 54,35	12,45
Proteína Bruta						
ING (g/dia)	459,45	464,47	465,31	429,32	Y = 454,64	12,42
CDAT (%)	63,06	68,78	58,16	56,58	Y = 61,65	16,28
Fibra em Detergente Neutro						
ING (g/dia)	3258,56	3366,38	3285,53	3210,79	Y = 3280,32	15,10
CDAT (%)	48,80	57,81	51,20	49,76	Y = 51,89	10,84
Extrato Etéreo						
ING (g/dia)	43,94	44,42	43,12	40,20	Y = 42,92	38,66
CDAT (%)	72,58	76,89	63,47	63,98	Y = 69,23	20,64
Carboidratos Não Fibrosos						
ING (g/dia)	485,38	509,86	498,04	465,95	Y = 489,81	12,85
CDAT (%)	61,41	67,05	64,01	60,17	Y = 63,16	13,32
Nutrientes Digestíveis Totais						
NDT (%)	56,68	64,27	57,90	54,96	Y = 54,91+1,49x-0,24x <sup>2</sup>	8,82

<sup>1</sup> OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

Cardozo et al. (2006), usando óleo essencial de erva-doce (*Pimpinella anisum*), para suplementar bovinos em crescimento, também relataram aumento no consumo de MS. No entanto, no mesmo trabalho, os autores relatam que o uso de uma combinação de cinamaldeído e eugenol (princípios ativos do óleo de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e de cravo-da-índia

(*Syzygium aromaticum* L.), respectivamente), reduziram o consumo de MS em bovinos. Esta redução também foi observada quando óleo essencial de canela (500 mg/dia) foi fornecido pra vacas em lactação (Busquet et al., 2003), e pode ter acontecido por problemas de palatabilidade, sugerindo que o produto deve ser encapsulado antes do fornecimento. Benchaar et al. (2006) não observaram mudança na ingestão de matéria seca, quando trabalhando com vacas em lactação e essas foram suplementadas com 2 g/dia de óleo essencial.

O coeficiente de digestibilidade aparente total da MS não foi alterado ( $P>0,05$ ) quando os animais receberam a suplementação de óleos essenciais. Os dados do presente experimento corroboram com dados de Meyer et al. (2007), que não encontraram diferença na digestibilidade da MS quando forneceram um composto de vários óleos essenciais para bovinos em crescimento e de Benchaar et al. (2007), que suplementando vacas em lactação com 750 mg/dia de uma mistura de óleos essenciais não encontraram diferença na digestibilidade de MS, assim como Benchaar et al. (2006) que relataram não observar mudança na digestibilidade da MS quando suplementaram vacas em lactação com 2 g/dia de óleos essenciais.

Os dados do presente experimento diferem com Castillejos et al. (2006) que observaram que 50 mg/ L de timol maximizaram a digestibilidade da MS, enquanto que 5 e 500 mg/L não causaram efeito. Esses dados sugerem que os efeitos dos óleos essenciais dependem do tipo e da dose dos óleos essenciais, provável explicação para a perda do efeito quando se administra doses maiores de óleos essenciais.

Com relação à matéria orgânica, não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos para o consumo e coeficiente de digestibilidade total (Tabela 2). Experimentos utilizando alta proporção de volumosos (70-90%) mostraram uma digestibilidade total da matéria orgânica entre 58 a 67% (Gonzálvez et al., 1991; Araújo et al., 1994; Cardoso et al., 2000), semelhantes ao valor do tratamento que forneceu aos animais 2 g/dia de óleos essenciais.

O consumo de proteína não foi afetado pelos diferentes níveis de inclusão de óleos essenciais, assim como a digestibilidade total (Tabela 2). Segundo Egan & Doyle (1985), para animais semelhantes ao usados neste experimento são necessários 0,578 Kg de PB/dia para otimizar o funcionamento do rúmen e não prejudicar o consumo. O consumo médio desse experimento foi de 0,455 Kg de PB/dia, abaixo do recomendado pelos autores citados

acima, conseqüência da alta proporção de feno de baixa qualidade e provável fator para o não aparecimento de diferenças significativas entre os tratamentos.

A média de consumo de FDN foi 1,42% do PV. Segundo Rezende (1994) o consumo máximo de FDN em bovinos de corte gira em torno de 1,26% PV. Lopes & Aroeira (1998) e Vidal et al. (2005), trabalharam com capim elefante registraram consumos da FDN de 1,40% e 0,92% respectivamente, dependendo do teor de FDN da dieta e da proporção concentrado:volumoso.

A digestibilidade aparente total da FDN não teve diferença significativa ( $P>0,05$ ) para os diferentes níveis de óleos essenciais. A dose intermediária (2 g/dia) administrada para os animais apresentou o maior valor numericamente. Esses dados corroboram com Castillejos et al. (2006) que trabalhando com níveis crescentes de óleo essencial (5, 50 e 500 mg/L) em experimentos *in vitro* observaram queda na digestibilidade da FDN quando o nível maior de óleo foi adicionado. No mesmo experimento, o autor citado acima, relatou que o eugenol (princípio ativo do óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.)), não teve ação sobre a digestibilidade da FDN.

Da mesma forma que no presente experimento, Benchaar et al. (2007) não observaram diferenças na digestibilidade da fibra quando suplementaram vacas em lactação com um produto composto por vários óleos essenciais.

Em relação ao extrato etéreo, não houve efeito dos óleos essenciais ( $P>0,05$ ) em qualquer nível de inclusão para o consumo e digestibilidade aparente total (Tabela 2). Apesar de não apresentar diferença significativa, a administração de 1 e 2 g/dia de óleo essencial aumentou em 15% a digestibilidade da gordura. Segundo Hernandez et al. (2004), os óleos essenciais aumentam a secreção de sais biliares, bem como a atividade da enzima lípase pancreática e alfa-amilase.

Os carboidratos não fibrosos não foram afetados pelos óleos essenciais, e obteve valor médio para digestibilidade total de 60%, inferior aos valores encontrados na literatura (72-80%) com animais recebendo dietas com 80% de volumoso (Gonçalvez et al., 1991; Araújo et al., 1994 e Cardoso et al., 2000).

Os nutrientes digestíveis totais apresentaram um comportamento quadrático em relação aos diferentes níveis de óleos essenciais (Figura 1), sendo que o nível de óleo que teve maior ação sobre a digestibilidade dos nutrientes foi de 3,10 g/dia.

Evans & Martin (2000) relataram que a administração de óleo essencial na dieta de ruminantes reduziu as concentrações de metano e de lactato, embora em doses mais elevadas reduziu também a digestão dos nutrientes e produção total dos ácidos graxos de cadeia curta, uma clara indicação que o metabolismo microbiano foi inibido. Este efeito foi atribuído à perda da integridade da membrana celular e uma redução na absorção de glicose. Essa afirmação pode explicar a provável diminuição da digestibilidade dos nutrientes do presente experimento quando foram administrados 4 e 8 g de óleos essenciais diariamente.

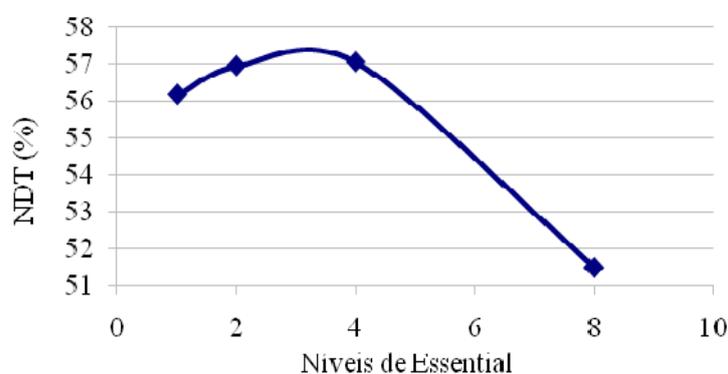


Figura 1 – Variação do NDT nos diferentes níveis de óleos essenciais

#### Parâmetros Ruminais:

Na Tabela 3 são mostradas as equações de regressão e coeficientes de determinação para pH ruminal e concentração de amônia (N-NH<sub>3</sub>) em função dos tempos de coleta.

As equações de regressão obtidas para pH e N-NH<sub>3</sub> apresentaram coeficiente de determinação ( $r^2$ ) bastante baixo, o que indica um comprometimento na validação das mesmas devido a uma grande variação nos dados.

O pH sofreu um efeito ( $P < 0,05$ ) quadrático em relação às horas de coleta, mas não foi influenciado ( $P > 0,05$ ) pelos diferentes níveis de óleos essenciais (Figura 2).

Tabela 3 – Equações de regressão ajustadas para pH e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) em função dos tempos de coleta com (P <0,05)

pH		r <sup>2</sup>
Regressão		
OL1, OL2, OL4, OL8 <sup>1</sup>	$Y = 7,26 - 0,07x + 0,002x^2$	0,16
NH <sub>3</sub>		
Regressão		
OL1, OL2, OL4, OL8	$Y = -59,66 + 13,66x - 0,61x^2$	0,48

<sup>1</sup> OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

O pH ruminal variou de 6,63 a 6,79 para todos os tratamentos, apresentando, portanto, seu menor valor ainda acima do valor considerado mínimo desejável (6,2), conforme Hoover (1986), Oskov (1988) e Van Soest (1994), ideal para promover a fermentação da fibra.

Diferentemente do que normalmente ocorre, houve uma pequena elevação do pH após o fornecimento de alimento. Uma explicação para esta elevação do pH até duas horas depois da primeira alimentação é a alta inclusão da uréia nos suplementos, já que esta inclusão (nitrogênio não protéico) provoca picos de produção de amônia entre 1 à 2 horas após alimentação, ao contrário do fornecimento de proteína verdadeira que tem o pico de produção de amônia entre 3 e 5 horas após a alimentação.

Outro fator que pode ter contribuído é a baixa qualidade da forragem fornecida. Devido ao alto teor de fibra da dieta, ocorrem elevadas taxas mastigatórias e como consequência uma elevada secreção salivar, favorecendo o tamponamento do rúmen, já que segundo Mertens (2001), essa correlação é positiva. Além disso, nem sempre os animais ingeriam todo suplemento antes da ingestão de feno, o que sugere um maior tamponamento do rúmen pela maior presença de uréia no rúmen sendo hidrolisada a carbonato de amônia.

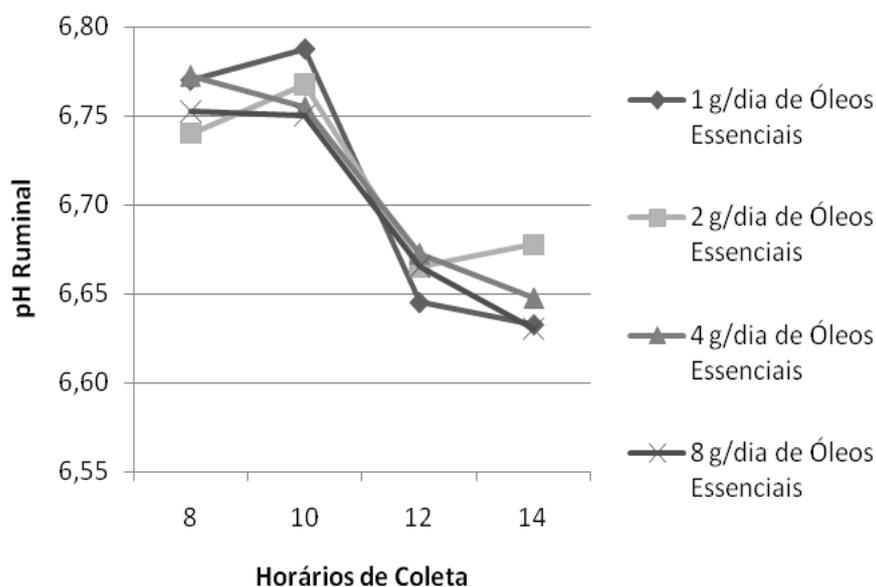


Figura 2 – Variação do pH ruminal durante o período de 6 horas após a primeira alimentação do dia

Segundo Lima (2003) a secreção de saliva é o mecanismo mais importante para remoção dos íons hidrogênio produzidos durante a fermentação ruminal dos alimentos, e a remoção destes íons é fundamental para manutenção do pH ruminal. A saliva, segundo o autor, contém íons bicarbonato e fosfato que ajudam na remoção de íons hidrogênio através da alcalinização e tamponamento.

As concentrações de N-NH<sub>3</sub> sofreram influência dos horários de coleta ( $P < 0,05$ ) em função do tempo após a alimentação, e os valores variaram de 5,34 a 25,14 mg/100mL de fluido ruminal (Tabela 4 e Figura 3).

Os valores encontrados no presente experimento são coerentes, pois segundo Sater & Slyter (1974), o nível mínimo de N-NH<sub>3</sub> para manter a fermentação adequada e ocorrer degradação da parede celular é de 5mg/100mL de líquido ruminal.

O NRC (1989) recomenda que, para que sejam observados níveis aceitáveis de digestibilidade ruminal da MS, seja mantida uma concentração de amônia ruminal igual ou superior a 5 mg/dL.

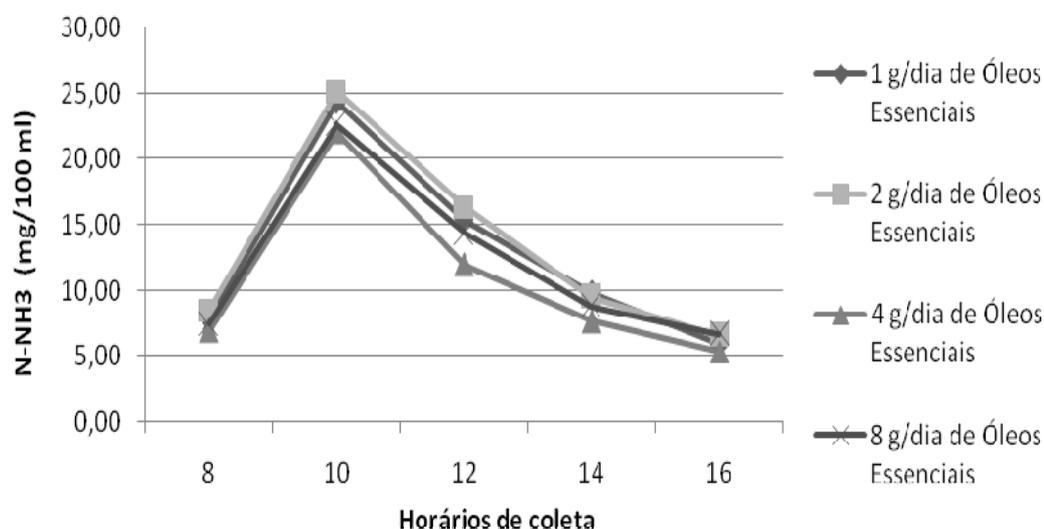


Figura 3 – Variação nas concentrações de N-NH<sub>3</sub> durante o período de 8 horas após a primeira alimentação do dia

Na Tabela 4 são mostrados as médias e coeficientes de variação para concentração de pH e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) em função dos tempos de coleta.

Tabela 4 – Médias e coeficientes de variação para concentração de pH ruminal e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) em função dos tempos de coleta

	Tratamentos <sup>1</sup>				CV(%)
	OL1	OL2	OL4	OL8	
pH	6,72	6,71	6,71	6,73	2,56
N-NH <sub>3</sub> (mg/100mL)	12,68	13,20	10,79	11,98	56,52

<sup>1</sup>OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

Não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) em relação ao pH ruminal para os diferentes tratamentos. No entanto, Molero et al. (2004) trabalhando com duas dietas, com alto teor e baixo teor de concentrado, verificaram uma melhor atuação dos óleos essenciais sobre os parâmetros fermentativos e adaptação da flora microbiana somente quando misturados à última dieta.

Oh et al. (1967) verificaram o aumento do pH ruminal quando utilizaram óleo essencial de laranja em dieta com 90% de concentrado para ovinos. Segundo este autor esse resultado sugere que os óleos essenciais são um potente modulador do pH ruminal em dietas de alto grão, porém podem não surtir o mesmo efeito em dietas com alta proporção de volumoso. Evan & Martin (2000) observaram que a adição de 400 mg/L de timol aumentou o pH ruminal em experimentos *in vivo*, no entanto este mesmo efeito não foi verificado em doses menores (50, 100 e 200 mg/L). Da mesma forma, Castillejos et al. (2006) avaliaram os efeitos de doses crescentes (0, 5, 50, 500, e 5000 mg/L) de eugenol (Cipó Nativo - *Thyinnanthus fasciculatus*), timol, guaiacol (Guaiáco - *Guajacum officinale*), limoneno (Bergamota - *Citrus aurantium*), e vanilina (Cravo-da-índia - *Syzygium aromaticum*) sobre a fermentação ruminal em 24hs, em experimentos *in vitro* e verificaram que com a dose mais elevada (isto é, 5000 mg/L), todos estes compostos aumentaram o pH ruminal, mas não foram observados efeitos nas doses mais baixas.

Em relação à concentração de amônia ruminal, não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) quando os animais receberam diferentes doses de óleos essenciais. No entanto, fornecimento de 4 g/dia de óleos essenciais manteve a concentração de amônia ruminal mais baixa em comparação com os outros tratamentos.

Mehrez et al. (1977) recomendam que a concentração de amônia deve ser de 24 mg/dL de líquido ruminal para o máximo desaparecimento de substrato, porém os mesmos autores propuseram não ser necessário manter de forma constante, altas concentrações de amônia no líquido ruminal. No entanto, se forem considerados estes valores ou os propostos por Leng (1990) de concentração de amônia ruminal de 20 mg/dL de líquido ruminal, como adequado para um máximo consumo voluntário em condições tropicais, pode-se concluir que a baixa qualidade do feno fornecido aos animais restringiu a síntese de proteína microbiana e a taxa de fermentação.

A degradação da proteína é um processo complexo que inclui proteólise, peptidólise e deaminação. Os estudos demonstram que a proteólise não é grandemente afetada pela adição de óleos essenciais. No entanto, em experimentos de incubação *in vitro* utilizando líquido ruminal de ovinos com adição de óleos essenciais, demonstraram que a quebra de aminoácidos em amônia foi inibida, sem afetar a atividade proteolítica e peptidolítica. (Newbold et al., 1999; Wallace et al., 2002; McIntosh et al., 2003).

Em controvérsia, inúmeros estudos (Molero et al., 2004; Newbold et al., 2004) demonstram que a utilização de óleos essenciais inibe a proteólise e a deaminação de aminoácidos. Alguns desses estudos sugerem que o período experimental deveria ser no mínimo 28 dias para que possa observar efeitos mais relevantes na fermentação microbiana.

Há evidências que alguns óleos essenciais reduzem a taxa de deaminação dos aminoácidos, taxa de produção de amônia e o número de bactérias hiper-produtoras de amônia (McEwan et al., 2002; Wallace et al., 2002; McIntosh et al., 2003).

Na Tabela 5 são apresentados as médias, coeficientes de variação e equações de regressão para a concentração de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácidos graxos de cadeia curta totais e a razão ácido acético/ácido propiônico.

As concentrações de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e ácidos graxos totais não foram influenciados ( $P>0,05$ ) pelos diferentes níveis de inclusão de óleos essenciais. O fornecimento de 2 g de óleos essenciais diariamente aumentou numericamente a concentração dos ácidos se comparado aos outros níveis de administração.

Tabela 5 – Médias, coeficientes de variação e equações de regressão para concentração de ácido acético (C2), ácido propiônico (C3), ácido butírico (C4), ácidos graxos de cadeia curta totais (AGCCT) e a razão ác. acético/ ác. propiônico (C2/C3)

	Tratamentos <sup>1</sup>				CV(%)	Regressão
	OL1	OL2	OL4	OL8		
Ácido acético (mM)	40,12	45,06	40,70	42,59	13,43	$y = 29,88+14,03x-4,11x^2+0,32x^3$
Ácido propiônico (mM)	13,35	15,10	13,61	14,04	13,99	$y = 8,82+6,19x-1,80x^2+0,14x^3$
Ácido butírico (mM)	6,86	8,93	7,35	7,78	16,28	$y = 3,99+3,86x-1,09x^2+0,08x^3$
Ácidos graxos totais	62,24	71,46	63,60	66,55	13,02	$y = 65,96$
Razão C2/C3	3,02	2,98	3,00	3,03	8,54	$y = 3,01$

<sup>1</sup> OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), encontrados no rúmen, são provenientes quase que em sua totalidade da fermentação dos carboidratos dietéticos. Estes ácidos constituem a maior fonte de energia para os ruminantes, considerando que somente uma pequena parte dos carboidratos escapa à degradação, no rúmen, após serem ingeridos pelos animais (Coelho & Leão, 1979).

Owens & Goetsch (1986) relataram que com dietas à base de forragens, os AGCC suprem cerca de 50-85% da energia metabolizável usada pelos ruminantes. A capacidade de

absorção de AGCC é cerca de nove vezes a exigência de manutenção de vacas em lactação, por conseguinte, a absorção não é o fator limitante no metabolismo.

Newbold et al. (2004) observaram que as concentrações de ácidos graxos totais tenderam a ser maiores 6 horas após a alimentação em ovinos suplementados com 110 mg/dia de uma mistura de vários óleos essenciais. No entanto, Wallace et al. (2002) suplementaram ovinos canulados com 100 mg/dia de óleos essenciais e não observaram efeito na concentração de AGCC.

O fornecimento de 2 g de óleos essenciais diariamente aumentou em 11% a produção total dos ácidos graxos. Esses dados são semelhantes aos de Castillejos et al. (2005) que em experimentos *in vitro* suplementados com 5 mg/L observou um aumento de 8% nos ácidos graxos de cadeia curta totais, no entanto altas doses não afetaram a produção dos mesmos, assim como aconteceu no presente experimento com os maiores níveis. Estes dados indicam que uma dose ótima deve ser requerida para manter os efeitos dos óleos essenciais.

A proporção relativa dos diferentes AGCC produzidos varia amplamente, dependendo dos componentes químicos degradados e do pH ruminal. Maiores proporções de propionato são produzidos na degradação da hemicelulose, enquanto que com a degradação dos carboidratos solúveis da planta (amido e açúcares), o padrão de produção de AGCC é alto tanto em propionato, quanto em acetato e baixo em butirato. Em contrapartida, a degradação de amido de cereais produz alta concentração de propionato. A proporção molar típica dos AGCC, produzidos quando o animal alimenta-se basicamente de forragens, representa uma relação de 73:20:7 (acetato; propionato; butirato), comparado com 60:30:10 em misturas de concentrado e forragens e somente com concentrado obteve uma relação 50:40:10 (Black, 1990). Milford & Minson (1965) relataram que a proporção de AGCC varia também com o tipo de forragem oferecida e seu estágio de maturação.

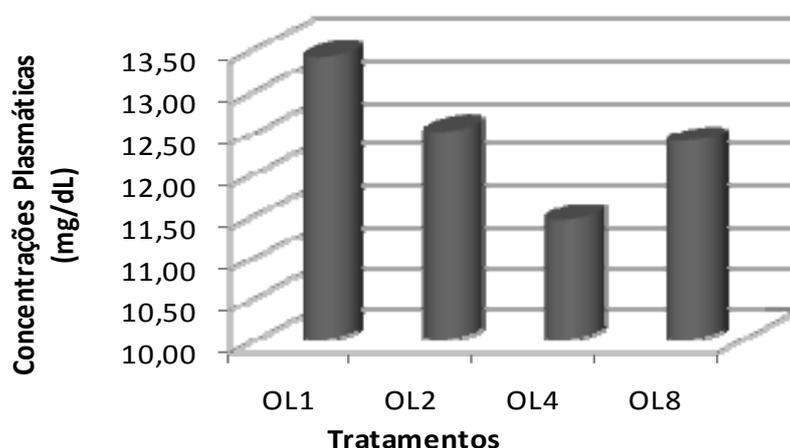
A proporção dos ácidos graxos de cadeia curta do presente experimento (Tabela 5) foi de 64:22:14 (acetato:propionato:butírico), inferior aos valores citados pelos autores acima quando forneceram dietas a base de volumosos e semelhantes aos encontrados em dietas contendo volume e concentrado em iguais proporções (50:50).

Parâmetros Sanguíneos:

Na Figura 4 e Tabela 6, são apresentados os valores médios das concentrações de N-uréico plasmático (NUP) e coeficiente de variação (CV%).

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos tratamentos nos níveis de NUP. Os tratamentos apresentaram uma média de 12,43 mg de NUP/dL, considerada normal por Swenson & Reece (1996), que consideram a faixa entre 10 e 30 mg/dL aquelas normais para bovinos.

Os valores do presente experimento também estão próximos aos relatados por Valadares et al. (1997), onde a concentração de NUP resultante de máxima eficiência microbiana varia de 12,5 a 15 mg/dL, sendo que acima desses valores estaria ocorrendo uma perda de proteína no processo de fermentação no rúmen.



<sup>1</sup> OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

Figura 3– Variação nas concentrações de NUP para os tratamentos testados

Tabela 6 – Variação nas concentrações de NUP para os tratamentos testados

	Tratamentos <sup>1</sup>				Regressão	CV(%)
	OL1	OL2	OL4	OL8		
NUP (mg/dL)	13,39	12,51	11,44	12,37	Y = 12,43	14,97

<sup>1</sup> OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

Kenny et al. (2002) trabalhando com novilhas de corte em dieta exclusivamente volumosa obtiveram concentrações média de NUP de 13,50 mg/dL, muito semelhante aos valores encontrados neste experimento.

Bortoli et al. (2007), trabalhando com novilhas recebendo um produto comercial (Rumex<sup>®</sup>) composto por vários óleos essenciais, leveduras e saponinas encontraram valores de nitrogênio uréico plasmático superiores aos encontrados no presente experimento (15,83 mg/dL).

### Síntese Microbiana:

A determinação ou a estimativa do suprimento de proteína microbiana é uma importante área de estudo na nutrição de ruminantes.

Sabendo-se que as exigências de proteína, para a produção ou manutenção dos ruminantes, são o resultado da síntese de proteína microbiana a partir da degradação de proteína no rúmen, do nitrogênio endógeno reciclado via saliva, da proteína dietética não degradada no rúmen e da proteína do animal (Bôer et al. 1987), e é de elevada importância o conhecimento do potencial de produção do nitrogênio microbiano a partir do alimento.

Na Tabela 7 são mostrados os valores médios, coeficiente de variação e equações de regressão para o pH da urina (pH), volume urinário (VUR), excreção diária de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) e eficiência de síntese de proteína microbiana (Efi).

Com relação ao volume urinário, não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos, sendo de 8,14 L/dia o valor médio encontrado para este parâmetro.

Os resultados do presente experimento corroboram com Rodrigues et al. (2001), que trabalhando com bovinos da raça Canchin, com 357 Kg de peso vivo, observaram um volume de urina desses animais em média de 7,6 L/dia.

Os valores de volume urinário deste experimento diferem dos valores observados por Chizotti et al. (2006) os quais trabalhando com novilhas com peso médio de 453 Kg obtiveram valores de 17,47 L/dia, assim como também dos valores observados por Pina et al. (2006) que trabalhando com vacas leiteiras, observaram valores de 14,26 L/dia.

Tabela 7 - Médias, equações de regressão e coeficientes de variação (CV) para o pH da urina (pH), volume urinário (VUR), excreção diária de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic), eficiência de síntese de proteína microbiana (Efi)

	Tratamentos				Regressão	CV (%)
	OL1	OL2	OL4	OL8		
VUR (L/dia)	8,02	9,59	7,53	7,42	Y = 8,14	12,52
ALA (mmol/dia)	113,98	139,54	111,98	111,63	Y = 119,28	36,98
AcU (mmol/dia)	8,94	10,58	8,69	9,02	Y = 9,31	45,84
DP (mmol/dia)	122,92	150,12	120,67	120,65	Y = 128,59	21,36
Nmic (g/dia)	70,62	77,85	71,52	70,58	Y = 72,64	78,65
Efi (g PBmic/kg NDT)	105,69	135,65	104,01	103,98	Y = 112,33	51,65

<sup>1</sup> OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

A excreção diária de alantoína não sofreu efeito ( $P > 0,05$ ) com o uso de diferentes doses de óleos essenciais. No entanto, o tratamento que forneceu 2 g/dia de óleos essenciais mostrou uma excreção maximizada se comparada com os outros tratamentos. O valor de alantoína para a dose de 2 g/dia foi de 139,54 mmol/dia. Valores mais altos de alantoína (216,66 a 303,89 mmol/dia) foram relatados por Oliveira et al. (2001) em estudo com vacas leiteiras suplementadas com diferentes níveis de NNP. Os valores observados neste experimento também foram mais baixos do que os observados por Magalhães et al. (2005) que estudando diferentes níveis de uréia em dietas de novilhos encontraram valores de alantoína de 154,7 mmol/dia.

A proporção da excreção de alantoína em relação aos derivados de purina totais foi de 92% do total dos derivados de purina. Este valor é alto se comparado com Misra et al. (2006), que ao quantificarem a síntese de proteína microbiana de ovinos recebendo 70% de feno encontraram proporções de alantoína de 77% e Verbic et al. (1990) que encontrou uma proporção de alantoína, em relação às purinas totais, foi de 85,2%.

No entanto, os dados do presente experimento são semelhantes a Leão (2002) que relatou valor médio de 87,9%, e Rennó (2003) que encontrou o valor de 91,9% para a proporção de alantoína nos derivados de purina totais.

As excreções de ácido úrico não foram afetadas pelas diferentes doses de inclusão de óleo essencial, sendo o valor médio de 9,31 mmol/dia, e este perfazendo 8% dos derivados de purina totais. Chen & Gomes (1992) consideram que a proporção de ácido úrico nos derivados de purinas (DP) varia de 15 a 20% e são muito constantes no mesmo animal, mas variam entre animais. Entretanto, a proporção observada neste experimento está próxima da proporção observada por Chizotti et al. (2006) que em média foram de 8,25% de ácido úrico nos DP.

Assume-se que todos os ácidos nucleicos de origem dietética são degradados no rúmen e que, portanto os ácidos nucleicos que deixam o rúmen são essencialmente de origem microbiana. Os derivados de purina compreendem, portanto, hipoxantina, xantina, ácido úrico e alantoína. Porém, apenas alantoína e ácido úrico são excretados por bovinos e bubalinos. Isso porque os bovinos apresentam alta atividade de xantina oxidase na mucosa intestinal, degradando, portanto, as bases púricas e seu derivado mais distante ácido úrico e alantoína (Chen & Gomes, 1992).

A concentração dos derivados de purinas totais, estimativa de síntese de compostos nitrogenados microbianos e a eficiência de síntese microbiana não foram influenciadas ( $P>0,05$ ) pelas dosagens de óleos essenciais. A eficiência de síntese microbiana foi maximizada quando se administrou 2 g/dia de óleos essenciais, sendo esse aumento na eficiência de 23%, isso provavelmente foi consequência da melhor digestibilidade dos nutrientes quando expostos a essa mesma dose (Tabela 2 e Tabela 3). O melhor valor apresentado (135,65 g PBmic/kg NDT) está próximo ao proposto pelo NRC (2001), de 130 g PBmic/kg NDT, e àquele estimado por Magalhães (2003), de 128,72 g PBmic/kg NDT.

#### *Cinética Ruminal:*

Na Tabela 8 são mostrados a taxa de diluição, volume ruminal e tempo de retenção para os diferentes tratamentos.

Tabela 8 - Médias, equações de regressão e coeficientes de variação (CV) para taxa de diluição (Kp), volume ruminal (Vol) e tempo de retenção (TRet)

	Tratamentos <sup>1</sup>				Regressão	CV (%)
	OL1	OL2	OL4	OL8		
Kp (%/h)	7,45	8,54	7,48	7,12	Y = 7,65	10,24
Vol (L)	60,74	57,89	56,35	58,78	Y = 58,44	12,69
TRet (h)	13,42	11,70	13,36	14,04	Y = 13,13	11,74

<sup>1</sup> OL1 = 1 g/dia/animal de óleos essenciais; OL2 = 2 g/dia/animal de óleos essenciais; OL4 = 4 g/dia/animal de óleos essenciais; OL8 = 8 g/dia/animal de óleos essenciais.

O valor médio observado para a taxa de diluição (7,65%/h) para todos os tratamentos foram inferiores aos achados de Owens e Goetsch (1986) que relataram taxas de passagem de fluidos de 8,2%/h entre 0 e 50% de concentrado; 6,7%/h entre 50 e 80%; e 5,2%/h acima de 80%, sendo que o presente experimento tinha 20% de concentrado na dieta.

O valor médio da taxa de diluição deste experimento estão abaixo das médias de 10,18 e 10,1%/h apresentadas por Firkins et al. (1986) e Carey et al. (1993) e dos valores de 11,7 e 10,85%/h relatados por Gunter et al. (1990) e Peyraud et al. (1997).

No entanto, Jones et al. (1988) obtiveram taxa de passagem de fluidos média de 6,8%/h, referido para o nível de 30% de concentrado, próximos aos dados deste experimento que fornecemos aos animais 20% de concentrado.

Ospina (1995) mencionou que, em geral, animais alimentados com volumosos apresentam maiores taxas de diluição que animais alimentados com concentrados, estando este fato aparentemente relacionado à maior produção salivar.

Burger et al. (2000) sugere que a metodologia de Co-EDTA superestimou o volume de líquido ruminal, que foi, em média, 93,14 litros, correspondendo a 56,73% do peso corporal médio de 164,2 kg dos bezerros, superior aos 15 a 21% relatados por Owens e Goetsch (1986) e 20,53% citados por Berchielle (1994) para o volume ruminal de bovinos.

No presente experimento o volume ruminal não foi influenciado pelos tratamentos e obteve um valor médio de 58,44 L, que corresponde a 25,40% do PV, também superior aos últimos autores citados acima.

Da mesma forma que ocorreu com as outras variáveis, o valor de tempo de retenção do alimento não foi influenciado ( $P > 0,05$ ) pelos diferentes níveis de óleos essenciais para os

animais. Os maiores níveis de inclusão de óleos essenciais diminuíram em 20% a retenção ruminal do alimento. O tempo de retenção no rúmen-retículo encontrado neste trabalho foi inferior ao obtido por Soares (2002), de 55 horas, em animais consumindo capim-elefante.

São incipientes os dados sobre cinética ruminal utilizando óleos essenciais como aditivo para ruminantes.

### **Conclusões**

O uso de óleos essenciais em dietas a base de volumoso para bovinos em crescimento, utilizando o produto natural Essencial conferiu melhores efeitos na digestibilidade aparente total dos nutrientes em nível de 3,10 g/dia. Além de manter um adequado pH ruminal, baixas concentrações de amônia e ácidos graxos de cadeia curta, adequado nitrogênio uréico plasmático e melhora na eficiência de síntese microbiana.

### Referências Bibliográficas

- A.O.A.C. (Association of Official Agricultural Chemists). **Official Methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 15.ed. Washington, v.2. 1990.
- ALÇIÇEK, A., BOZKURT, M. and ÇABUK, M. The effects of a mixture of herbal essential oil, an organic acid or a probiotic on broiler performance. *South African Journal of Animal Science* 34: p.217-222. 2004.
- ARAUJO, W. P. **Constituição Físico-química, celular e microbiológica de leites tipo A, B e especial colhidos de vacas criadas no Estado de São Paulo. Contribuição à semiologia da glândula mamária**. Tese (Livre-Docência), 1994.– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- AROEIRA, L.J.M. Estimativas de consumo de gramíneas tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE DIGESTIBILIDADE, 1997, Lavras. **Anais...** Lavras: FAEPE, p.127-163. 1997.
- BENCHAAR, C., H. V. PETIT, R. BERTHIAUME, T. D. WHYTE, and P. Y. CHOUINARD. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. *Journal Dairy Science*, 89. p.4352–4364. 2006.
- BERCHIELLI, T.T.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C. Polietilenoglicol e cobalto-EDTA como marcadores da fase líquida ruminal. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.48, p.463-471, 1994.
- BLACK, L.L. Crecimiento y desarrollo de corderos. In: Haresign, W. *Producción Ovina*. México:A.G.T.Editor,S.A. p.3-62. 1990.
- BOTSOGLOU, N.A., P. FLOROU-PANER, E. CHIRISTAKI, D.J. FLETOURIS and A.B. SPAIS, Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissue. *Br. Poult. Sci.*, 43: 223-230. 2004.
- BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C; SILVA, J.F.C. et al. Consumo e digestibilidade aparente total e parcial em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.1, p.206-214, 2000.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 94, n.3, p.223-253, 2004.

- BUSQUET, M., S. CALSAMIGLIA, A. FERRET, and C. KAMEL. Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. **Anim. Feed Science Technology**, 123-124: p.597–613. 2003.
- CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G.. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, p. 135. 2004.
- CARDOSO, R.C.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F. et al. Consumo e digestibilidades aparentes totais e parciais de rações contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos F1 Limousin x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1832-1843, 2000.
- CARDOZO, P.W. et al. Effects of alfafa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. **Journal of Animal Science**. V.84, n.10, p.2801–2808. 2006.
- CARDOZO, P.W.; CALSAMIGLIA, S. et al., Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. **Journal of Animal Science**. v.83, n.1, p.2572-7579. 2005.
- CAREY, D.A., CATON, J.S., BIONDINI, M. Influence of energy source on forage intake, digestibility, *in situ* forage degradation, and ruminal fermentation in beef steers fed medium-quality brome hay. **Jornal Animal Science**, 71(8): p.2260-2269. 1993.
- CASTILLEJOS, L., S. CALSAMIGLIA, A. FERRET, and R. LOSA. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. **Anim. Feed Sci. Technol.** 119: p.29–41. 2006.
- CASTILLEJOS, L., S. CALSAMIGLIA, A. FERRET, and R. LOSA. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. **Animal Feed Science Technology**, 119: p.29–41. 2005.
- CHEN, X.B., MEJIA, A.T., KYLE, D.J. et al. Evaluation of the use of purine derivative: creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal Agriculture Science**., 125:137-143. 1995.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details. **International feed research unit**. Aberdeen: Rowett Research Institute, p. 21. 1992.

- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I. et al. Casca de algodão em substituição parcial à silagem de capim-elefante para novilhos. 1. Consumo, degradabilidade e digestibilidade total e parcial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2093-2102, 2006.
- COLUCCI, P.E. Comparative digestion and digesta kinetics in sheep and cattle. 1984. 230 f. Thesis (Doctor of Philosophy) - University of Guelph, Ontario, 1984.
- DENLI, M., OKAN, F., ULUOCAK, A., M. Effect of dietary supplementation of herb essential oils on the growth performance carcass and intestinal characteristics of quail (*Coturnix coturnix japonica*). **South African Journal of Animal Science**. 34: p.174-179. 2004.
- DIAS, H.L.C. **Consumo, digestibilidade e eficiência microbiana em novilhos F<sub>1</sub> Limousin x Nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis de concentrado**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 76p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- DRAGLAND, S.; SENOO, H.; WAKE, K. et al. Several Culinary and Medicinal Herbs Are Important Sources of Dietary Antioxidants. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 1286-1290, 2003.
- EGAN, J.K.; DOYLE, P.T. Effect of intraruminal infusion of urea on the response in voluntary feed intake by sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.36, n.3, p.483-495, 1985.
- EVANS, J.D.; MARTIN, S.A. Effects of thymol on ruminal microorganisms. **Current Microbiology**, v.41, p.336-340, 2000.
- FIRKINS, J.L., BERGER, L.L., MERCHEN, N.R. et al. Effects of forage particle size, level of feed intake and supplemental protein degradability on microbial protein synthesis and site of nutrient digestion in steers. **Journal Animal Science**, 62(4): p.1081-1094. 1986.
- FUJIHARA, T.; RSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, p.7-12, 1987.
- GONÇALVES, L. C.; SILVA, J. F. C.; ESTEVÃO, M. M.; TORRES, R. A. Consumo e digestibilidade da matéria seca e da energia em zebuínos e taurinos, seus mestiços e bubalinos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 20, n. 4, p. 384-395, 1991.
- GUNTER, S.A., KRYSL, L.J., JUDKINS, M.B. et al. Influence of branched-chain fatty acid supplementation on voluntary intake, site of digestion, ruminal fermentation, digesta kinetics and microbial protein synthesis in beef heifers consuming grass hay. **Journal Animal Science**, 68(9): p.2885-2892. 1990.

- HALVORSEN, B.L.; HOLTE, K.; MYHRSTAD, M.C.W. et al. A Systematic Screening of Total Antioxidants in Dietary Plants. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 461-471, 2002.
- HERNÁNDEZ, F.; MADRID, J.; GARCIA, V. et al. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, v.83, p.169-174, 2004.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved en ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.
- KENNY, D.A.; BOLAND, M.P.; DISKIN, M.G. et al. Effect of rumen degradable protein with or without fermentable carbohydrate supplementation on blood metabolites and embryo survival in cattle. **Journal Animal Science.**, v.74, p.529-537, 2002.
- LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana.** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. 57p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, v.3, p.277-303, 1990.
- LIMA, H.R.C.; CAVALCANTE-LIMA, H.R.; CEDRAZ-MERCERZ, P.L.; COSTA-ESOUZA, R.H.; OLIVARES, E.L.; BADAUÊ- PASSOS Jr, D.; MEDEIROS, M.A.; CÔRTEZ, W.S. & REIS, L.C. Brain serotonin depletion enhances the sodium appetite induced by sodium depletion or beta-adrenergic stimulation. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.76, p.85-92, 2003.
- LOPES, F. C. F.; AROEIRA, L. J. M. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em vacas Holandês X Zebu alimentadas com capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) picado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 5, p. 593-599, 1998.
- MADRID J., MEGIAS M.D., HERNANDEZ F. Determination of short chain volatile fatty acids in silages from artichoke and orange by-products by capillary gas chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 79, 580-584. 2003.
- MAGALHÃES, K.A. **Níveis de uréia ou casca de algodão na alimentação de novilhos de origem leiteira em confinamento.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 90p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Desempenho, composição física e características da carcaça de novilhos alimentados com diferentes níveis de casca de algodão, em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2005.

- McEWAN, C. J. NEWBOLD, and R. J. WALLACE. Ammonia production by rumen microorganisms and enumeration, isolation, and characterization of bacteria capable of growth on peptides and amino acids from the sheep rumen. **Appl. Environ. Microbiol.** 68:4925-4931. 2002.
- McINTOSH, F.M. et al. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p. 5011–5014, 2003.
- MEHREZ, A. Z.; ORSKOV, E. R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, v.38, n.3, p.437-443, 1977.
- MERTENS, D.R. Physical effective NDF and its use in formulating dairy rations. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOS DE LEITE, 2., Lavras. Anais... Lavras:UFLA-FAEPE, p.25-36. 2001.
- MILFORD, R., MINSON, D.J. Intake of tropical pasture species. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE PASTAGENS, 9, São Paulo. Anais... São Paulo: Departamento de Produção Animal, 1965, p. 815-822. 1965.
- MISRA, A. K.; MISHRA, A. S.; TRIPATHI, O.H. ; et al. Intake, digestion and microbial protein synthesis in sheep on hay supplemented with prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*, Mill) with or without groundnut meal. **Small Ruminant Research**. v. 63, p. 125-134, 2006.
- MOLERO, R., M. IBARS, S. CALSAMIGLIA, A. FERRET, and R. LOSA. Effect of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate rations. **Animal Feed Science Technology**. 114: p.91–104. 2004.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of the dairy cattle. 6.ed. Washington, D.C.158p. 1989.
- NEWBOLD, C. J., F. M. MCINTOSH, P. WILLIAMS, R. LOSA, and R. J. WALLACE. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science**. 114:105–112. 2004.
- NEWBOLD, C.J., MCINTOSH, F.M., WALLACE, R.J., WILLIAMS, P. and SUTTON, J.D. Effects of essential oils in ammonia production by rumen fluid in vitro. In: VIII Symposium on Protein Metabolism and Nutrition, Aberdeen (UK), 1-4 September 1999, 63. 1999.
- OH, H. K., T. SAKAI, M. B. JONES, and W. M. LONGHURST. Effect of various essential oils isolated from Douglas fir needles upon sheep and deer rumen microbial activity. **Appl. Microbiol.** 15:p. 777–784. 1967.

- OLIVEIRA, A.S., VALADARES, R.F.D., VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite em vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista brasileira de zootecnia**, 30(4): p.1358-1366. 2001.
- ØRSKOV, E.R. **Nutricion proteica de los ruminantes**. Saragoza: Ed. Acribia. p. 178. 1988.
- OSPINA, H. **Influência do nível de consumo de feno sobre a digestibilidade, cinética digestiva e degradação ruminal em bovinos**. Porto Alegre:UFRGS, 1995. 249p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The ruminant animal digestive physiology and metabolism**. New Jersey: Prentice Hall, p.145-171. 1986.
- PEYRAUD, J.L., LIBOUX LE, S., VÉRITÉ, R. Effect Du niveau de nature de l'azote dégradable sur la digestion ruminale d'un régime à base d'ensilage de maïs chez la vache laitière. **Reprod. Nutr. Dev.**, 37(3):313-328. 1997.
- PRESTON, T. R.; LENG, R. A. Sulphur nutrition of ruminants. In: PRESTON, T. R.; LENG, R. A. (Eds.). **Matching ruminant production systems with available resources in the tropics and sub-tropics**. Armidale: Penambul Books, p. 46-47. 1987.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40. 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: 2003. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.
- RENNÓ, L.N. et al. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1235-1243, 2000.
- RESENDE, F.D de. **Efeito do nível de fibra em detergente neutro da ração sobre a ingestão alimentar de bovídeos de diferentes grupos raciais, em regime de confinamento**. Viçosa: UFV, 1994. 60p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia).
- RODRIGUES, L. R. de A.; F. A. MONTEIRO e T. J. D. RODRIGUES. Capim Elefante. In: PEIXOTO, PEDREIRA, MOURA e DE FARIA. Anais 17. Simpósio sobre Manejo da Pastagem, FEALQ, Piracicaba, p.203-225. 2001.
- SANTOS, E.D.G.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. *et al.*. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em tourinhos Limousin-Nelore, suplementados durante a seca em pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* Stapf. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, Viçosa, v. 33, n. 3, 2004.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT®. **User's guide: statistics, versão 8.1**. 4. ed., v.2, Cary: SAS Institute, 2000.

- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal Nutrition**, v.32, p.199, 1974.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; Van SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Jornal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- SOARES, J.P. **Fatores limitantes do consumo de capim-elefante cv. Napier utilizando vacas leiteiras confinadas**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2002. 110p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, 2002.
- SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 855 p. 1996.
- VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JUNIOR, V.R. et al. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2 ed. Viçosa:UFV. p.329. 2006.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 1. Consumo e digestibilidades aparentes totais e parciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1252-1258, 1997.
- VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. Ithaca, New York: Cornell. p.476. 1994.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-246, 1990.
- VIEIRA, P.F. Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes. Viçosa, MG: UFV, 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- WALLACE, R. J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. **Proc. Nutr. Soc.** 63:621-629. 2004.
- WALLACE, R. J., N. R. MCEWAN, F. M. MCINTOSH, B. TEFEREDEGNE, and C. J. NEWBOLD. Natural products as manipulators of rumen fermentation. **Asian-Australas. Journal Animal Science**. 10:1458-1468. 2002.
- WILLIAMS, C.H., DAVID, D.J., IISMA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **J. Agric. Sci.**, 59(3).p.381-385. 1962.

## CONCLUSÕES GERAIS

O uso de óleos essenciais (Essential-Oligobasics<sup>®</sup>), como alternativa aos ionóforos, se mostrou muito eficiente tanto em dietas alto grão quanto em dietas a base de volumoso para bovinos em crescimento, conferindo efeitos semelhantes a monensina (em dietas alto grão) na digestibilidade aparente total dos nutrientes, concentração de pH ruminal, amônia, ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio uréico plasmático e melhora na eficiência de síntese microbiana.

Os melhores valores obtidos foram de 4 g/dia de óleos essenciais para dietas alto grão e 3,10 g/dia de óleos essenciais em dietas a base de volumosos.