

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO**

**PATRICIA DE AZEVEDO CASTELO BRANCO DO VALE**

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COMO PRÓ-NUTRIENTES NAS RAÇÕES  
DE LEITÕES**

**Campos dos Goytacazes  
2009**

**PATRICIA DE AZEVEDO CASTELO BRANCO DO VALE**

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COMO PRÓ-NUTRIENTES NAS RAÇÕES  
DE LEITÕES**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares**

**Campos dos Goytacazes  
2009**

## Ofereço

Aos meus filhos, Luís Felipe e Alice, por existirem e serem a luz da minha vida e  
minha maior inspiração e alegria.

Aos meus pais, Maria Isabel e Carlos Antônio,  
pela minha formação, exemplo de vida, pelo amor,  
amizade e apoio incondicionais em todos os momentos  
de minha vida.

Aos meus irmãos, Pedro e Paulo, pelo amor, amizade e incentivo sinceros.

Ao meu marido, Welington, pelo amor, amizade, companheirismo, paciência e  
incentivo.

Aos meus avós, primos e tios pelo apoio e carinho.

Aos meus sinceros amigos Anilce, Ana Renata, Ana Luisa Castro, Juliana dos  
Santos

## Dedico

## AGRADECIMENTO

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), pelo oferecimento deste curso e concessão da bolsa de estudo.

A minha orientadora, professora Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares, pela orientação, amizade, paciência, respeito, apoio e confiança durante todas as etapas deste trabalho.

À empresa New Products, na pessoa do Sr. Francisco Sansônio, pelo apoio orçamentário e doação de produtos utilizados nos experimentos, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.

Aos professores Rony Antonio Ferreira, José Brandão Fonseca e Humberto Pena Couto, pela amizade e ensinamentos passados.

Aos funcionários do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Zootecnia, Sr. José, Jonas e José Maurício, pela grande ajuda e amizade formada durante os períodos de experimentos e convívio.

À Lourdes, técnica do LSA, pela ajuda imprescindível para realização de todas as etapas das análises microbiológicas.

Ao professor Olney Vieira (LSA/CCTA), por me ajudar na interpretação dos dados de microbiologia intestinal.

Aos técnicos Cláudio Lombardi, Maria Beatriz Mercadante e Lanamar, pelo auxílio prestado durante o desenvolvimento do experimento.

Às bolsistas e amigas, Rafaela Motta, Natália Cabral, Tânia Mota, Erika Monteiro Tavares, Michelle Lyra, que estiveram sempre presentes no período experimental.

Aos ex-colegas de curso e amigos, Julien Chiquieri, Vitor Libardo e Vaneila Lenhartz, pela ajuda essencial no abate e coleta de segmentos do intestino dos leitões.

À sempre amiga, apesar da distância, Anilce Brêtas, pelo constante incentivo, cooperação e companheirismo.

A todos aqueles que estiveram comigo, durante esta longa jornada, os meus mais sinceros agradecimentos.

E a Deus, por tudo.

*O homem é o que pensa.*

*Se você insistir em pensar no mal, na dor,  
na doença, você os atrairá para si.*

*Pense na saúde, na alegria, na prosperidade,  
e sua vida tomará novo rumo.*

*Afirme sempre que é feliz,  
que as dores passam, que a saúde  
se consolida cada vez mais, e a felicidade  
baterá a sua porta.*

*Seja otimista e permaneça o mais possível  
ligado ao PAI CELESTIAL.*

***“Minutos de Sabedoria” (C. Torres Pastorino)***

## **BIOGRAFIA**

PATRICIA DE AZEVEDO CASTELO BRANCO DO VALE, filha de Carlos Antônio Accarino Castelo Branco e Maria Isabel da Silva Marques de Azevedo, nasceu no Rio de Janeiro, RJ, em 10 de março de 1978.

Concluiu o ensino médio no Colégio Anglo, em Cataguases, MG, em 1995.

Graduou-se em Zootecnia em janeiro de 2001, pela Universidade Federal de Lavras.

Iniciou o curso de mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Lavras (UFLA), na área de concentração em Nutrição de Monogástricos em março de 2001, defendendo dissertação em 21 de fevereiro de 2003.

De 2003 a 2005, trabalhou como professora das disciplinas Suinocultura, Bovinocultura de Leite e Corte e Biologia, além de atuar como responsável técnico dos setores de suinocultura e bovinocultura, na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), lotado no Centro Tecnológico/Instituto Técnico de Agropecuária e Cooperativismo (CT/ITAC), escola de ensino médio em Pitangui, Minas Gerais.

Em março de 2005, iniciou, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), o curso de Doutorado em Ciência Animal, submetendo-se à defesa de tese para conclusão do curso, em abril de 2009.

## RESUMO

DO VALE, PATRICIA DE AZEVEDO CASTELO BRANCO, DSc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; abril de 2009; **Utilização de óleos essenciais como pró-nutrientes nas rações de leitões**; Professora Orientadora: Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares; Co-orientador: Rony Antonio Ferreira.

Foram realizados três experimentos na Unidade de Apoio à Pesquisa em Zootecnia do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal, situado na Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo, no município de Campos dos Goytacazes, RJ. O primeiro experimento teve como objetivo avaliar o desempenho dos animais, bem como os efeitos de antimicrobiano e óleos essenciais sobre a morfometria dos órgãos, histologia do epitélio intestinal e sobre a microbiologia intestinal de leitões recém-desmamados. Foram utilizados 60 leitões, com peso inicial médio de  $7,2 \pm 1,3$  kg, distribuídos em um delineamento de blocos casualizados de cinco tratamentos com quatro repetições de três leitões cada. Os tratamentos foram os seguintes: T1- Ração basal (sem pró-nutriente); T2- Ração basal + 0,2% antibiótico (Trissulfin); T3- Ração Basal + 0,02% óleos essenciais (Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>); T4- Ração Basal + 0,04% Tecnaroma Herbal<sup>®</sup> e T5- Ração Basal + 0,06% Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>. O experimento teve duração de 42 dias. No final deste experimento foi abatido um animal por baia para pesagem dos órgãos, coleta de segmentos do intestino delgado para avaliação da altura das vilosidades intestinais e avaliação da microbiologia intestinal. O segundo experimento teve como objetivo avaliar o efeito de antimicrobianos, óleos essenciais, probiótico e ácidos orgânicos sobre o desempenho de leitões. Foi realizado um experimento em delineamento de blocos casualizados, nos quais foram testados, durante 42 dias, quatro tratamentos, com cinco repetições: T1- ração basal + 0,2% antibiótico; T2- ração Basal + 0,06% Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>; T3- ração basal + 0,2% Probiótico (*Bacillus subtilis*) e T4- ração basal + 0,3% Ácido Orgânico (300 g de ácido benzóico, 100 g de ácido fumárico, 100 g de ácido cítrico e 85 g de ácido fosfórico). Foram utilizados 60 leitões, desmamados aos 21 dias de idade, com peso inicial médio de  $6,5 \text{ kg} \pm 1,0 \text{ kg}$ , alocados em 20 baias, cada uma com três leitões nos períodos inicial (21 a 42 dias)

e final (42 a 63 dias de idade). Nos dois experimentos, foram avaliados o consumo de ração diário, o ganho de peso diário e a conversão alimentar no período inicial (21 a 42 dias de idade), final (42 a 63 dias de idade) e total (21 a 63 dias de idade). O terceiro experimento consistiu em um ensaio de metabolismo, com o objetivo de avaliar os efeitos do antimicrobiano e dos óleos essenciais sobre a digestibilidade dos nutrientes das rações experimentais. Foi realizado um experimento em delineamento de blocos casualizados, nos quais foram testados, durante 12 dias, quatro tratamentos com cinco repetições e um animal por gaiola de metabolismo (unidade experimental). Os tratamentos corresponderam aos mesmos do primeiro experimento. Foram utilizados 20 suínos machos castrados mestiços, com 63 dias de idade e peso vivo médio  $22,0 \text{ kg} \pm 5,0 \text{ kg}$ . No primeiro experimento, os animais alimentados com a ração contendo o maior nível dos óleos essenciais apresentaram melhor desempenho, maior peso para o fígado, intestino delgado e intestino grosso, maiores alturas de vilosidades, criptas menos aprofundadas e maior relação AV/PC, em relação aos animais alimentados com ração controle ou contendo antibiótico. Para a contagem de bactérias, os animais que receberam o tratamento contendo antibiótico foram os que apresentaram a maior redução no número de UFC/g de conteúdo intestinal. No segundo experimento, os animais alimentados com as rações contendo antibiótico apresentaram melhor desempenho em relação aos animais que receberam os tratamentos com óleos essenciais, probiótico e ácidos orgânicos. No experimento de digestibilidade, os maiores coeficientes de digestibilidade foram observados nos animais que receberam o tratamento com o maior nível de inclusão dos óleos essenciais.

Palavras-chave: promotores de crescimento, desempenho, histologia intestinal, microbiologia intestinal, digestibilidade dos nutrientes.

## ABSTRACT

DO VALE, PATRICIA DE AZEVEDO CASTELO BRANCO, Dsc., Darcy Ribeiro Norte Fluminense State University; april 2009; **Essentials oils as growth promoters in the feed of piglets**; Major professor: Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares; Co-supervisor: Rony Antonio Ferreira.

Three experiments were accomplished in the Research Nucleous of the Nutrition and Animal Science Department of the North Fluminense State University, localized in the Agricultural Technical State School Antônio Sarlo in Campos dos Goytacazes, RJ. The first experiment had as objective to evaluate the effects of antimicrobial and essentials oils on the performance, organs morphometry, height of intestinal vilosity and intestinal microbiology of weaned pigs 21 days old. One completely randomized block experiment design was carried out during 42 days to compare five treatments: T1– base ration (without pro-nutrient); T2– base ration + 0,2% of antibiotic (Trissulfun); T3- base ration + 0,02% of essentials oils (Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>); T4- base ration + 0,04% of essentials oils (Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>) and T5- base ration + 0,06% of essentials oils (Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>). In this experiment sixty 21 days of age pigs weaned with initial weight of  $7,2 \pm 1,3$  kg were allotted in 20 pens, each one with three pigs and four replications per treatment. At the end of the experiment, one animal of each pen was slaughtered to weighing the organs and collect the content of the small intestine for evaluation of the intestinal vilosity height and intestinal microbiology assessment. In the second experiment, the objective was to evaluate the effects of antibiotic, essentials oils, probiotic and organic acid on the performance of weaned pigs at the age of 21 days. One completely randomized block experiment design was carried out during 42 days to compare four treatments: T1– base ration + 0,06% of essentials oils; T2– base ration + 0,2% of antibiotic (Trissulfun); T3 – base ration + 0,2% of probiotic (*Bacillus subtilis*) and T4 – base ration + 0,3% of organic acids (300 g of benzoic acid, 100 g of fumaric acid, 100 g of citric acid and 85 g of phosphoric acid). In this experiment were allotted sixty pigs weaned at 21 days of age with the initial weight of  $6,5 \text{ kg} \pm 1,0 \text{ kg}$  in 20 pens, each one with three pigs at the both periods: initial period (21-42 days of age) and final period (42-63 days of

age) and four replications per treatment. The third experiment consisted of a test for metabolism, to evaluate the effects of antimicrobial and essential oils on the digestibility of nutrients of experimental diets. An experiment was conducted in a randomized block design, which were tested during 12 days, four treatments with five replicates and one animal per cage for metabolism (experimental unit). The treatments were the same as in the first experiment. In this experiment were allotted twenty pigs at 63 days of age with the initial weight of 22,0 kg  $\pm$  5,0 kg and one pig per cage of metabolism. In the first experiment, the animals fed the diet containing the highest level of essential oils showed better performance, more weight to the liver, small intestine and large intestine, the greater heights of villi, crypts less depth and higher AV / PC, than animals fed with control diet or containing antibiotic. For the bacterial count, animals that received the treatment with antibiotic were those who had the greatest reduction in the number of CFU / g of intestinal contents. In the second experiment, the animals fed with feed containing antibiotics showed better performance in animals that received the treatments with essential oils, probiotics and organic acids. In the digestibility experiment, the higher digestibility coefficients were observed in animals that received treatment with the highest level of inclusion of essential oils.

Keywords: growth promoters, performance, intestinal histology, intestinal microbiology, digestibility of nutrients.

## SUMÁRIO

<b>1- INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2- REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
2.1- Aspectos morfofisiológicos do aparelho digestório de leitões recém-desmamados .....	16
2.2- Microingredientes promotores do crescimento .....	17
2.2.1- Modos de ação dos promotores de crescimento .....	18
2.2.2- Microingredientes antimicrobianos .....	19
2.2.2.1- Modos de ação .....	20
2.2.3- Óleos Essenciais .....	21
2.2.3.1- Modos de ação .....	22
2.2.3.2- Óleo Essencial do Eucalipto ( <i>Eucalyptus globulus e Eucalyptus citriodora</i> ) .....	27
2.2.3.3- Óleo Essencial de Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) .....	28
2.2.3.4- Óleo Essencial de Tomilho ou Timo ( <i>Thymus vulgaris</i> ) .....	29
2.2.3.5- Óleo Essencial de Alho ( <i>Allium sativum</i> ) .....	29
2.2.3.6- Óleo essencial de Aniz ( <i>Pimpinella anisum L.</i> ) .....	31
2.2.3.7- Óleo essencial de Aniz Estrelado ( <i>Illicium verum</i> ) .....	32
2.2.3.8- Óleo essencial de Ginepro ( <i>Juniperus communis</i> ) .....	32
2.2.4- Probióticos .....	33
2.2.5- Ácidos Orgânicos .....	35
<b>3- MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	38
3.1- Instalações experimentais e animais .....	38
3.1.1- Experimentos I e II .....	38
3.1.2- Experimento III .....	39
3.2- Tratamentos e dietas basais .....	39
3.2.1- Experimentos I e III .....	40
3.2.2- Experimento II .....	40
3.3- Tecnaroma ZTA Herbal Mix® .....	42
3.4- Experimento I – Ensaio de Desempenho I.....	42

3.4.1- Características Avaliadas .....	43
3.4.1.1- Desempenho dos animais .....	43
3.4.1.2- Morfometria dos órgãos .....	43
3.4.1.3- Histologia do epitélio intestinal (Microscopia ótica) .....	44
3.4.1.4- Microbiologia intestinal – Contagem total de bactérias .....	44
3.5- Experimento II – Ensaio de Desempenho II .....	45
3.5.1- Desempenho dos Animais .....	46
3.6- Experimento III – Ensaio de Digestibilidade .....	46
3.7- Modelo Estatístico e Análise estatística .....	47
<b>4- RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
4.1- Experimento I – Ensaio de Desempenho I.....	49
4.1.1- Desempenho dos animais .....	49
4.1.2- Morfometria dos órgãos .....	54
4.1.3- Histologia do epitélio intestinal .....	57
4.1.4- Microbiologia intestinal – Contagem total de bactérias .....	60
4.2- Experimento II – Ensaio de Desempenho II .....	62
4.2.1- Desempenho dos animais .....	62
4.3- Experimento III – Ensaio de Digestibilidade .....	66
<b>5- CONCLUSÕES .....</b>	<b>69</b>
<b>6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>70</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No sistema confinado de produção de suínos, o período mais crítico para criação dos animais vai do nascimento ao final da creche. A redução do período lactacional, associado à imaturidade digestiva dos leitões, fez com que técnicos e produtores utilizassem controladores sintéticos de microorganismos, sendo os aditivos antimicrobianos (antibióticos, quimioterápicos) os de uso mais generalizado (Menten, 2001).

O uso de antibióticos como promotores de crescimento é praticado desde os anos 50, baseado em suas características de pró-nutrientes, no que diz respeito à melhoria na eficiência alimentar, redução na mortalidade e morbidade devido a infecções clínica e subclínica e melhora na performance reprodutiva.

No entanto, a maioria dos antibióticos usados como promotor de crescimento na alimentação animal foi proibida na Europa em 1999, devido a duas constatações, que fizeram com que o uso desses aditivos antimicrobianos passasse a ser visto como fator de risco para a saúde humana. São elas: (a) presença de resíduos dos antimicrobianos na carne, ovos e leite e (b) indução de resistência cruzada entre bactérias patogênicas em humanos (Menten, 2001).

Os primeiros antimicrobianos largamente utilizados na produção animal a serem proibidos pela União Européia foram: bacitracina de zinco, espiramicina, virginamicina, tilosina, carbadox e olaquinox (Cromwell, 1999).

No Brasil, o uso de clortetraciclina, oxitetraciclina, penicilina (Portaria DAS/MA Nº 159 de 23 de junho de 1992), nitrofurazona, furazolidona, cloranfenicol (Portaria DAS/MA Nº 448 de 10 de setembro de 1998) e avoparcina (Portaria SVS/MS Nº 819 de 16 de outubro de 1998) como promotores de crescimento já foi proibido (Soncini, 1999). Atualmente, os aditivos antimicrobianos autorizados pelo Ministério da Agricultura para uso em rações, como promotores de crescimento de suínos são: avilamicina, colistina, flavomicina, lincomicina, tilosina, salinomicina, espiramicina, enramicina, eritromicina, tiamulina, clorexidina, bacitracina de zinco e halquinol.

Sendo assim, diversas pesquisas buscando alternativas para minimizar o impacto da proibição e retirada dos antimicrobianos das rações têm sido desenvolvidas. Essas substâncias alternativas incluem os pré-bióticos, pró-bióticos,

enzimas, ácidos orgânicos e, mais recentemente, os extratos vegetais e seus óleos essenciais.

Os óleos essenciais e os extratos vegetais foram utilizados durante séculos para melhorar ou prevenir os efeitos de uma variedade de doenças em seres humanos. Estes produtos naturais freqüentemente são referidos como fitobióticos. Certos fitobióticos são conhecidos por conter compostos com efeitos antimicrobianos. Os fitobióticos podem agir como bacteriostáticos (previne a multiplicação bacteriana) ou bactericidas (matam as bactérias). Eles também podem estimular a alimentação através de suas características aromáticas e saborizantes.

Os fitobióticos, que contêm compostos tais como taninos, flavonóides ou mucilagens, podem reduzir a incidência de diarreia devido a suas propriedades antiinflamatórias. Os flavonóides e os extratos de alho, cebola e páprica podem proteger o suíno contra a diarreia pós-desmame, devido à estimulação da atividade dos seus fagócitos. Os fenóis, encontrados nos extratos de carvacrol e timol, alteram as membranas das Salmonelas e da *E. coli* (e outros patógenos), causando talvez a morte da célula, enquanto muitos dos microrganismos benéficos não são afetados.

Os extratos vegetais e seus respectivos óleos essenciais ainda são pouco estudados. Entre os possíveis mecanismos de ação dos extratos vegetais no organismo animal, destacam-se o estímulo da digestão – com um aumento na digestibilidade e absorção de nutrientes, alterações na microbiota intestinal, efeito antimicrobiano e imunomodulador (Mellor, 2000).

Embora alguns efeitos tenham sido demonstrados, há ainda grande desconhecimento dos mecanismos envolvidos nos processos.

Particularmente na produção animal, observa-se nos estudos uma forte tendência pelo uso de plantas aromáticas, considerando-se a composição e o potencial antimicrobiano de seus respectivos óleos essenciais.

O presente trabalho teve como objetivos avaliar o efeito da utilização de óleos essenciais em dietas para leitões na fase de creche, sobre o desempenho, parâmetros morfofisiológicos (peso dos órgãos, altura das vilosidades, profundidade das criptas e relação altura das vilosidades e profundidade das criptas), microbiologia intestinal e digestibilidade das rações experimentais.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Aspectos morfofisiológicos do aparelho digestório de leitões recém-desmamados**

O conhecimento da fisiologia e da morfologia do aparelho digestório de leitões recém-desmamados é de grande importância, visto que o estresse decorrente da desmama, comumente realizada no período de 21 a 28 dias de idade, somado à mudança de dieta e ambiente, é um grande desafio aos leitões e aos nutricionistas (Oetting, 2005).

Normalmente, há queda de desempenho nos dias posteriores a desmama, o que pode ser justificado por uma série de desafios com os quais se depara. Esses desafios incluem: estresse ambiental (decorrente da separação da mãe e reagrupamento social), estresse imunológico (ausência da proteção advinda do leite materno e pela presença de potenciais patógenos – Salmonella, Rotavírus) e estresse nutricional (mudança de alimentação líquida para sólida) (Stokes et al., 2001).

A retirada de uma dieta líquida (leite materno), altamente digestível e rica em gordura, lactose, caseína, e o início do consumo de uma ração seca, menos palatável, contendo amido, óleos e proteínas vegetais, associada à imaturidade de seu sistema digestivo, justificam parcialmente a queda no desempenho posteriormente a desmama (Branco et al., 2006). Outro fator que contribui para esse quadro é a limitada capacidade física de ingestão (estômago e intestino delgado). Mesmo que o animal ingira quantidades satisfatórias de alimento, a secreção insuficiente de enzimas digestivas, ácido clorídrico, bicarbonato de sódio e muco não permite uma digestão e absorção de nutrientes adequada (Molly, 2001).

No momento da desmama, ocorre uma queda drástica na quantidade de ácido láctico no estômago, o que provoca um aumento no pH estomacal. Com o pH acima do nível normal, a pepsina não é ativada e a digestão das proteínas da ração é reduzida, acarretando na passagem de substrato fermentável a outras porções do intestino delgado (Campadal et al., 1995).

A ingestão insuficiente de alimentos, a digestão incompleta e, na maioria dos casos, a presença de farelo de soja (fatores alergênicos) nas rações, levam a alterações na estrutura do epitélio intestinal. Em apenas 24 horas após a desmama, há uma redução drástica na altura das vilosidades em todos os segmentos do intestino delgado, devido a uma maior descamação dos enterócitos. As vilosidades deixam de apresentar formas alongadas, semelhantes a dedos, e passam a se assemelhar com línguas ou folhas (Pluske et al., 1997). Em resposta a este processo, acelera-se a diferenciação celular voltada a criptogênese, causando aprofundamento das criptas (Pluske et al., 1996; Hedemann et al., 2003).

O encurtamento das vilosidades e o aprofundamento das criptas acarretam perdas na atividade de algumas enzimas (isomaltase, sacarase, lactase) da borda em escova dos enterócitos. As peptidases também apresentam queda de atividade, principalmente na porção proximal do intestino delgado, onde a atrofia das vilosidades é mais pronunciada (Hedemann et al., 2003).

As vilosidades desgastadas e as criptas aprofundadas apresentam menor quantidade de células absortivas em comparação com as secretoras. Esse fato, juntamente com os citados anteriormente, ocasiona uma digestão incompleta de carboidratos e proteínas, bem como redução na absorção de líquidos, sódio, potássio e cloreto, o que altera a osmolaridade do conteúdo intestinal, podendo levar o animal a uma diarreia osmótica. (Nabuurs et al., 1993).

Mesmo com todos esses desafios, é a simples presença do alimento no trato digestivo que irá estimular as funções digestivas intestinais (secreção de hormônios e enzimas e proliferação celular), até que se alcance a maturidade do sistema e o animal possa suprir suas exigências nutricionais (Kelly e King, 2001).

## **2.2 Microingredientes promotores do crescimento**

Diversos microingredientes são utilizados em dietas de leitões recém-desmamados, com o intuito de controlar agentes prejudiciais ao processo digestivo, promovendo melhoras nos índices zootécnicos e maximização da produção.

De acordo com o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (1998), os microingredientes são classificados em 13 grupos quanto à sua natureza e função

(acidificantes, adsorventes, aglutinantes, antioxidantes, anticoccidianos, antifúngicos, aglutinantes, conservantes, aromatizantes/palatabilizantes, corantes, enzimas, pigmentantes, pró-bióticos e promotores do crescimento e/ou eficiência alimentar) e divididos em 3 classes de acordo com seu modo de ação específico ou característica funcional (pró-nutrientes, coadjuvantes de elaboração e profiláticos).

No Brasil, promotores de crescimento são considerados aditivos. A legislação que regulamenta a inspeção e fiscalização dos produtos destinados à alimentação animal, Decreto nº 76986, de 06/01/1976, define, em seu artigo 4º, item VII, que aditivos são “substâncias intencionalmente adicionadas aos alimentos, com a finalidade de conservar, intensificar, ou modificar suas propriedades desde que não prejudique seu valor nutritivo, como antibióticos, antioxidantes, corantes e outros” (Mota, 1996).

Esses aditivos pertencem à classe dos pró-nutrientes (juntamente com antioxidantes, pró-bióticos, pré-bióticos, ácidos orgânicos, etc), definidos como microingredientes de alimentação, usados oralmente em pequenas quantidades, promovendo os valores intrínsecos de uma mistura de nutrientes em uma dieta animal. Podem ser substâncias naturais ou sintéticas, ou organismos vivos, adicionados à ração animal, com os objetivos de aumentar o ganho de peso, melhorar a eficiência alimentar, diminuir a mortalidade e até mesmo melhorar a eficiência reprodutiva (Zuanon, 1995).

### **2.2.1 Modos de ação dos promotores de crescimento**

Os promotores de crescimento atuam reduzindo as infecções bacterianas intestinais preservando a integridade da mucosa intestinal, permitindo que haja melhor absorção dos nutrientes e desempenho produtivo dos animais (Silva, 1999).

O uso de promotores de crescimento pode promover alterações na composição da microbiota em decorrência da perda da eficiência de fixação de certos microrganismos ao epitélio intestinal, alteração no perfil e na quantidade de substâncias produzidas no lúmen intestinal, alterações no nível de ácidos graxos voláteis produzidos e controle de bactérias causadoras de doenças subclínicas que deprimem o crescimento do animal (Brugalli, 2003).

Os promotores de crescimento também podem exercer uma influência significativa sobre a digestibilidade dos nutrientes, pois eles interferem na secreção de enzimas e sucos gástricos e podem promover alterações positivas sobre a histologia do epitélio intestinal, como o aumento da altura das vilosidades e redução da profundidade das criptas (Butolo, 1999).

### **2.2.2 Microingredientes antimicrobianos**

Os aditivos antimicrobianos (antibióticos e quimioterápicos) são os promotores de crescimento e de eficiência alimentar de uso mais generalizado na produção animal, trazendo grandes benefícios, quando utilizados em doses terapêuticas nas rações (Menten, 2001).

Antibióticos são agentes antimicrobianos sintetizados por microorganismos vivos como leveduras, fungos e bactérias. Já os quimioterápicos são substâncias obtidas por síntese química, com ação semelhante aos antibióticos.

Os antibióticos podem ser usados na nutrição animal nas rações em níveis subterapêuticos ou subclínicos (dosagem menor do que a recomendada para ação medicamentosa), prevenindo doenças e favorecendo uma ação promotora de crescimento e na medicina veterinária como terapêutico com ação curativa. Na nutrição, os antibióticos “promotores de crescimento” atuam como potencializadores dos ganhos nutricionais das dietas, os quais são obtidos pelo aumento da disponibilidade dos nutrientes para os animais (Butolo, 1999).

Os antibióticos e quimioterápicos representam um grupo de compostos com estruturas químicas heterogêneas e propriedades físico-químicas diferentes, que têm como único ponto comum a capacidade antibacteriana, resultando na alteração seletiva da população microbiana do intestino do animal e no estímulo do crescimento de bactérias benéficas (Zuanon et al., 1998).

### 2.2.2.1 Modos de ação

Pode haver dois tipos de ação direta dos antimicrobianos sobre as bactérias e/ou fungos sensíveis: a morte do agente (efeito bactericida) ou a parada de seu crescimento e reprodução (efeito bacteriostático). Esses efeitos podem ocorrer por interferência na síntese da parede celular (antibióticos  $\beta$ -lactanose e bacitracinas), alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática (ionóforos), interferências na replicação cromossômica (quinoxalinas) e na síntese protéica (streptomicinas) (Mellor, 2000).

Os antibióticos promotores de crescimento devem atuar impedindo o metabolismo bacteriano e reduzindo a competição direta pelos nutrientes entre a bactéria e o hospedeiro. Além disso, reduzir a produção microbiana de metabólitos tóxicos, como as aminas, amônia e endotoxinas que afetam o epitélio intestinal e impedem a absorção de nutrientes.

Os possíveis mecanismos de ação pelos quais os antibióticos estimulam o crescimento dos animais segundo Prescott e Baggot (1991) e Teixeira (1998) são: (1) efeito metabólico, no qual os antibióticos de alguma forma afetam diretamente a marcha ou o desenvolver do processo metabólico do animal; (2) efeito nutricional, onde os antibióticos podem reduzir as necessidades de certos nutrientes estimulando o crescimento de certos organismos que sintetizam vitaminas ou aminoácido, aumentando a disponibilidade de nutrientes através da formação de quelatos, diminuindo os organismos que competem com o animal por nutrientes, melhorando a capacidade de absorção do trato intestinal por reduzir a espessura da parede intestinal; (3) efeito por controle da enfermidade, eliminando os organismos causadores de manifestações clínicas ou subclínicas de doenças, que provocam o declínio no ritmo de crescimento; (4) diminuição da produção de substâncias bacterianas tóxicas que retardam o crescimento, dentre os quais, a amônia e as aminas primárias; (5) aumento da síntese de vitaminas e de outros fatores de crescimento; e (6) redução da renovação (“turnover”) de células da parede intestinal e da motilidade do intestino.

### 2.2.3 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são compostos orgânicos voláteis (metabólitos secundários) das plantas, extraídos por destilação a vapor ou extração por solventes voláteis, sendo misturas constituídas por um número variado de substâncias orgânicas com estruturas relativamente simples, onde os principais componentes provêm de rotas secundárias, no caso monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides. Essas composições naturais se tornaram um conveniente atrativo devido às suas propriedades biológicas e organolépticas (Silva et al., 2000).

Existem também os extratos vegetais, que basicamente possuem os mesmos constituintes dos óleos essenciais. O que os difere é o método de extração/obtenção. O termo óleo essencial implica por definição no método de preparação, isto é, a separação das substâncias voláteis por destilação a vapor, à pressão atmosférica (Braga, 1971).

As plantas são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que as mesmas são produzidas pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico. Inúmeras substâncias acumulam-se no vegetal para sua defesa contra microorganismos, algumas delas sendo denominadas de fitoalexinas (Aleu et al., 2001). As plantas sintetizam e emitem inúmeros compostos voláteis (ácidos, aldeídos e terpenos) para atrair polinizadores e se defender de herbívoros. No que concerne à defesa contra herbívoros, as plantas desenvolveram dois tipos de defesa, a direta e a indireta.

Na defesa direta estão envolvidas substâncias como sílica, metabólitos secundários, enzimas e proteínas, além de órgãos como tricomas e espinhos que afetam diretamente a performance do inseto (Braga, 1971).

Na defesa indireta estão envolvidas substâncias emitidas pela planta, que atraem parasitas e predadores do inseto fitófago (Lemos et al, 1990). Terpenos e fenilpropanóides voláteis sintetizados por espécies vegetais podem ter, dependendo do inseto em análise, propriedades atrativas (alimentação, polinização) e/ou detergentes e inseticidas. Nos últimos anos, óleos essenciais obtidos de plantas têm sido considerados fontes em potencial de substâncias biologicamente ativas (Braga, 1971). Ênfase tem sido dada às propriedades antimicrobiana, antitumoral e

inseticida de compostos voláteis, além de sua ação sobre o sistema nervoso central (Kelsev et al., 1984). Os óleos essenciais obtidos, por exemplo, de *Mentha pulegium* e *M. spicata* são muito eficazes como inseticidas. Pequenas quantidades já são suficientes para causar a morte de inúmeros insetos. Os monoterpenos pulegona, mentona e carvona, os principais constituintes do óleo de menta, foram considerados tóxicos para larvas de *Drosophila melanogaster* (Lemos et al, 1990).

Em um estudo realizado em granja comercial, com 72 leitões de 21 dias, observou-se que leitões tratados com um produto à base de óleos essenciais puderam competir eficazmente com relação ao ganho de peso e à conversão alimentar com os leitões que receberam ração com e sem antibiótico, sem uma maior incidência de episódios diarréicos que nesse período poderia ser esperado como resultado de um aumento da ingestão de ração, estimulado pelo aroma do produto. Os bons resultados gerais e a possível existência de uma atividade moduladora sobre a microflora intestinal, justificam outras provas mais específicas, seja *in vitro* ou *in vivo* (Tecnessense, 1998).

Em outro estudo realizado pela mesma empresa utilizando o mesmo produto, o ensaio envolveu suínos na fase de engorda, tendo duração de 110 dias. A característica avaliada foi o ganho de massa corporal. Os animais do grupo teste apresentaram maior aumento da massa corpórea em comparação aos animais do grupo controle, tendo assim, o produto à base de óleos essenciais um efeito positivo não só sobre a saúde do rebanho, mas também sobre seu desempenho, refletindo em maior lucratividade.

### **2.2.3.1 Modos de ação**

Um número relativamente reduzido de trabalhos é norteado pela idéia de se usar extratos de plantas ou mesmo seus metabólitos secundários para fins terapêuticos, profiláticos ou como melhoradores do desempenho de animais, baseando-se em informações relacionadas ao efeito antimicrobiano das plantas disponíveis na literatura geradas com testes *in vitro*. Dentre os possíveis mecanismos de ação dos extratos vegetais ou óleos essenciais no organismo animal, podem-se citar alterações na microbiota e histologia do epitélio intestinal,

aumento na digestibilidade e absorção de nutrientes, melhora da resposta imune, atividade antioxidante e controle da produção de amônia (Oetting, 2005).

Os efeitos exercidos pelas plantas podem ser explicados pela presença e constituição de seu (s) princípio (s) ativo (s). Princípios ativos são componentes químicos presentes em todas as partes das plantas ou em partes específicas, que conferem às plantas medicinais alguma atividade terapêutica (Martins et al., 1994). Essas substâncias são produzidas, principalmente, como um mecanismo de defesa da planta contra fatores externos.

Cada óleo essencial possui um composto presente em maior quantidade, considerado como o princípio ativo. Esse princípio ativo pode ser encontrado em diversas plantas em menores concentrações. O timol, por exemplo, apesar de ser encontrado no tomilho (41%) e no orégano (10%), só é considerado princípio ativo do tomilho, uma vez que o princípio ativo do orégano é o carvacrol (presente em 60% do óleo). Apesar de os princípios ativos primários (presentes em maiores quantidades na planta) serem responsáveis pelo efeito principal exercido no organismo, acredita-se que exista um efeito sinérgico, onde os componentes secundários atuam como potencializadores dos princípios ativos primários (Kamel, 2000).

Para que os princípios ativos tenham efeito em produtos comerciais, precisam ter suas concentrações aumentadas.

Os princípios ativos dos óleos essenciais são rapidamente absorvidos e metabolizados, no intestino pelos enterócitos e no fígado pelos hepatócitos, respectivamente. Deste metabolismo, compostos polares são obtidos, através da conjugação com o glicuronato. Estes compostos são excretados na urina. Também se pode observar a excreção de outros compostos pela respiração, na forma de CO<sub>2</sub> (Martins et al., 2000).

É bem provável que, pelo fato destes princípios serem rapidamente metabolizados, o risco de acúmulo nos tecidos seja bastante reduzido.

Assim como os antibióticos, o seu uso prolongado pode levar à resistência ao princípio químico (Mancini, 1984).

### a) Atividades Antisséptica e Antimicrobiana

Os óleos essenciais mostram atividade antisséptica e antimicrobiana com as várias bactérias patógenas mesmo nos troncos que são somente antibióticos resistentes. Muitos destes óleos são ativos com os fungos responsáveis pela micose (Cândida). As doses recomendadas para a atividade são geralmente baixas e foram determinadas por experimentos *in vitro* transferíveis diretamente no uso interno. Plantas aromáticas como a santoreggia, canela, timo, cravo, lavanda e eucalipto são os óleos essenciais com a atividade antisséptica mais marcante. A atividade antimicrobiana deve-se ao fato de que é bem documentada a atividade dos seus componentes principais, como por exemplo: *fenóis*, que agem no nível das membranas bacterianas; *álcoois*, que lesam as paredes celulares e favorecem uma desnaturação das proteínas; e *cetonas*, que têm uma atividade lipolítica a cargo dos lipopolissacarídeos (Kalemba e Kunicka, 2003).

Os métodos de avaliação mais utilizados para determinar a atividade antimicrobiana de um óleo essencial são o de difusão em agar e o de diluição.

Diversos fatores podem influenciar a determinação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: (1) por apresentarem baixa solubilidade em água e alta viscosidade, a distribuição do óleo no meio de cultura pode ficar comprometida; (2) longos períodos de incubação também podem resultar em evaporação ou decomposição de alguns componentes presentes no óleo durante o período de teste; (3) a condição do meio de cultura (tipo e volume); (4) concentração e validade do inóculo utilizado; (5) temperatura e tempo de incubação; e (6) tipo de solvente ou agente dispersor utilizado (Kalemba e Kunicka, 2003).

O efeito antimicrobiano de um óleo essencial está principalmente associado: (1) à alteração da permeabilidade e integridade da membrana celular bacteriana; (2) à relação entre a estrutura química dos compostos ativos presentes no óleo essencial e seu efeito antimicrobiano, sendo estes compostos com características hidrofílicas e lipofílicas (Farag et al., 1989); e (3) ao tipo de microrganismo testado, principalmente em relação às características de sua membrana celular.

Geralmente, bactérias gram-positivas são mais susceptíveis à ação dos óleos essenciais do que bactérias gram-negativas (Kalemba e Kunicka, 2003). Bactérias gram-negativas apresentam maior resistência à ação de agentes antimicrobianos

por terem uma superfície hidrofílica na membrana externa rica em lipopolissacarídeos, formando uma barreira contra as macromoléculas hidrofóbicas presentes em alguns óleos essenciais e antibióticos. Por isso, quanto maior a quantidade de moléculas lipofílicas presentes em um óleo essencial, maior será sua capacidade antimicrobiana sobre esse tipo de bactéria. Esse efeito foi comprovado em um estudo realizado por Dorman e Deans (2000), onde o carvacrol e o timol (compostos fenólicos) foram capazes de atuar sobre a integridade da parede celular de bactérias gram-negativas, causando a ruptura da parede externa.

Em alguns casos, os óleos essenciais apresentam atividade antimicrobiana mais pronunciada do que alguns antibióticos (Kamel, 2000): o eugenol, por exemplo, apresentou maior efeito bactericida contra a *E. coli*, *Enterobacter sakazakii* e *Klebsiela pneumoniae* do que antibióticos e quimioterápicos como ampicilina, eritromicina e sulfametazol.

#### **b) Atividade Enzimática e efeito sobre a digestibilidade**

Os óleos essenciais podem estimular a produção de saliva e de suco gástrico e pancreático, influenciando positivamente a secreção de enzimas pancreáticas, da sacarase e da maltase, melhorando a digestibilidade dos nutrientes (Mellor, 2000).

Com um aumento na produção de suco gástrico, haverá redução do pH estomacal, formando uma barreira natural contra microrganismos patogênicos e propiciando condições adequadas para atividade das enzimas digestivas do estômago, como a pepsina (Jones, 2002). Uma adequada digestão dos alimentos refletirá positivamente na microbiota intestinal, absorção de nutrientes, taxa de passagem do alimento e, conseqüentemente, na saúde e desempenho do animal (Jones, 2001).

A altura das vilosidades e a profundidade de criptas do epitélio intestinal também podem ser utilizadas como parâmetros para explicar uma melhora na digestibilidade dos nutrientes. Isso porque estas duas características estão diretamente relacionadas com a capacidade de absorção da mucosa intestinal. A altura das vilosidades reflete o balanço entre a atividade mitótica das células da cripta e o processo de descamação causado por agentes agressores (Manzanilla et

al., 2004). Alguns pesquisadores encontraram respostas ao uso de óleos essenciais sobre a histologia do epitélio intestinal de suínos e aves. Demir et al. (2003) encontraram uma redução na profundidade de cripta de frangos alimentados com ração contendo tomilho e aumento numérico da altura da vilosidade e relação altura da vilosidade e profundidade de cripta de suínos alimentados com rações contendo uma combinação de óleos essenciais (Utiyama, 2004).

A morfometria dos órgãos é outro parâmetro utilizado na tentativa de explicar as melhoras tanto na digestibilidade dos nutrientes quanto no desempenho dos animais. Alguns trabalhos relatam redução do peso do intestino e aumento no peso do pâncreas (Lewis et al., 2004) pela suplementação de óleos essenciais na dieta de frangos, enquanto outros (Lee et al., 2003b; Hernández et al., 2004) não observaram efeito significativo.

Embora existam diversas explicações, o efeito estimulante dos óleos essenciais na produção de enzimas e secreções intestinais é considerado a principal justificativa para a melhora da digestibilidade dos nutrientes.

### c) **Atividade Antioxidante**

As moléculas biológicas sensíveis ao ataque oxidativo são danificadas pelos radicais livres, causando a perda do equilíbrio dos sistemas biológicos e eventualmente a morte celular. A atividade antioxidante dos óleos essenciais está relacionada à presença de compostos fenólicos. No entanto, outros compostos, como os flavonóides (presentes no orégano e no tomilho) e terpenóides (como timoi, carvacrol e eugenol), também apresentam atividade antioxidante. A ação antioxidante pode ser desenvolvida com diversos mecanismos: (1) inibindo os processos que levam à formação das espécies radicais reativas; (2) catalisando a destruição dos radicais livres; agindo como “scavengers” (limpadores) de radicais; e (3) cessando as modificações que advêm após a ação dos radicais livres (Botsoglou et al., 2002b).

#### d) **Atividade Imuno-modulante**

Diversos princípios naturais parecem atenuar os processos infectivos graças ao efeito deles sobre o sistema imunológico. As defesas imunitárias aumentam por vários mecanismos como por exemplo: estimulam as fagocitoses dos macrófagos.

#### **2.2.3.2 Óleo Essencial do Eucalipto (*Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora*)**

Os óleos essenciais de eucalipto são compostos formados por uma complexa mistura de componentes orgânicos voláteis, freqüentemente envolvendo de 50 a 100 ou até mais componentes isolados, e apresentando grupos químicos como: hidrocarbonetos, alcoóis, aldeídos, cetonas, ácidos e ésteres. Em geral, os óleos essenciais são constituídos de terpenos mais complexos, como o citronelal e o cineol. (Dorman e Deans, 2000).

Nos eucaliptos, os óleos essenciais encontram-se basicamente em suas folhas. São produzidos e armazenados por glândulas e estão distribuídos de forma abundante no parênquima da folha da maioria das espécies de eucaliptos (Boland et al., 1991; Chaibi et al., 1997; Oyedeji et al., 1999).

O *Eucalyptus globulus*, conhecido popularmente como eucalipto, é originário da Austrália. As partes de interesse farmacológico são as folhas e principalmente o óleo essencial que é extraído das folhas (Vitti & Brito, 1999).

O *Eucalyptus citriodora* é uma espécie florestal muito utilizada no Brasil, sobretudo em função das suas satisfatórias características silviculturais e tecnológicas como a boa adaptação da espécie às diferentes regiões brasileiras, a alta densidade básica da madeira, o bom incremento volumétrico, a boa forma e a alta capacidade de brotação. Também se destaca como produtora de óleo essencial, encontrado principalmente nas suas folhas, cujo componente principal é o citronelal (Xavier, 1993; Taylor, 1996; Vitti & Brito, 1999).

O óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* é largamente utilizado na produção de desinfetantes sanitários e como matéria-prima na fabricação de produtos usados

em perfumaria e cosmética. Dos componentes do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, os mais utilizados são: citronelal, citronelol, dimetil-octanol, hidroxicitronelal, acetato de citronelila, acetato de dimetil-octanila.

No óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, como em outros óleos essenciais, cada componente tem um perfil característico e cada aroma e sabor é uma combinação dos perfis de seus constituintes. Alguns deles atuam em uníssono, outros competindo entre si ao ponto de se anularem. Em certos casos pode haver predominância de um componente como, por exemplo, do citronelal no óleo essencial de eucalipto (Xavier, 1993).

### **2.2.3.3 Óleo Essencial de Orégano (*Origanum vulgare*)**

O óleo essencial de orégano vem despertando interesse por possuir atividade biológica (antibacteriana, antifúngica e antioxidante), combatendo alguns tipos de bactérias que costumam ser muito resistentes aos antibióticos.

Na indústria de alimentos, o óleo destilado tem larga aplicação, levando em conta sua grande estabilidade de conservação e ausência de contaminação microbiológica (Varlet, 1993).

O orégano (*Origanum vulgare*) é considerado um tônico para o aparelho digestivo, composto por princípios ativos, como o cervacol, cimeno, linalol e tanino que garantem as propriedades digestivas (Martins, 1994).

Há outras evidências sobre os benefícios do consumo regular do tempero. Seus compostos fenólicos combatem os radicais livres no organismo.

É considerado um antioxidante porque impede que as gorduras se acumulem nas artérias e retarda o processo de envelhecimento.

As propriedades farmacológicas mais importantes do óleo essencial são propriedades tônicas, aromatizantes, carminativas, cicatrizantes e estomáticas.

#### **2.2.3.4 Óleo Essencial de Tomilho ou Timo (*Thymus vulgaris*)**

O tomilho é originário do Mediterrâneo. Suas poderosas propriedades anti-sépticas e de preservação eram conhecidas dos egípcios que o usavam para embalsamar em um preparado com outras ervas.

O timo era inicialmente usado para conservar a carne. Os romanos usavam-no também como xarope e digestivo. Ao longo dos séculos foi utilizado como antisséptico durante várias epidemias, mas foi apenas em 1853 que o químico francês M. L'Allemand descobriu o princípio ativo do óleo essencial a que chamou Timol. O timol foi muito utilizado como antimicrobiano em toda a Espanha desde meados do século XIX até o fim da 2ª Guerra Mundial.

O timol é extraído das inflorescências e das folhas cobertas de pêlos glandulares e de revestimento. O óleo essencial é rico em timol, que tem uma ação antimicrobiana contra vários agentes, quer bactérias quer fungos, por vezes mesmo contra micróbios que adquiriram resistência aos antibióticos comuns (Matos et al., 1999).

O tomilho é também rico em flavonóides, responsáveis pela ação antiespasmódica sobre a musculatura lisa de vários órgãos (brônquios, estômago, intestino). As propriedades farmacológicas mais importantes do óleo essencial são a digestiva, diurética, antisséptica e purificante (Venskutonis, 1997).

#### **2.2.3.5 Óleo Essencial de Alho (*Allium sativum*)**

O alho é consumido como alimento e como medicamento desde a antiguidade. Esta planta nativa do sudoeste da Sibéria e amplamente utilizada no Brasil apresenta no bulbo os componentes responsáveis por suas ações.

O alho é usado medicinalmente há mais de cinco mil anos, e era conhecido pelos gregos como "rosa de mau cheiro". No século XIX, Louis Pasteur demonstrou as propriedades antissépticas do alho, informação que foi utilizada nas Guerras Mundiais pelos exércitos ingleses, alemães e russos.

O óleo essencial é obtido através da destilação por arraste a vapor de bulbos macerados.

É um óleo praticamente transparente ou amarelo bem claro que tem o aroma típico do alho por causa do composto alicina. Além da alicina, o alho contém ajoeno, proteínas, ácidos graxos, carboidratos, flavonóides, vitaminas A, B1, B2, C e adenosina. Também foram isoladas duas saponinas esteroidais, tendo estas apresentado efeito inibitório sobre a coagulação sanguínea (Magalhães, 1988).

Investigações farmacológicas realizadas *in vitro* e *in vivo* indicaram para o alho atividade antibacteriana, antimicótica, antiviral, antitumoral, hipotensora, imunomoduladora, inibidora da agregação plaquetária e diminuidora das taxas de triglicerídeos e colesterol. Ele é tradicional e eficientemente utilizado no tratamento de infecções respiratórias, resolvendo congestões, fluidificando as secreções (expectorante), promovendo a desinfecção e desinflamação dos brônquios (Chaibi et al., 1997)

A teoria mais aceita para explicar as atividades biológicas do alho baseia-se na reatividade apresentada pela alicina e por alguns de seus produtos de degradação frente a grupamentos sulfidríla de proteínas, uma vez que foi demonstrado *in vitro* que a alicina inibe um grande número de enzimas, cujos sítios ativos contêm cisteína. Quando o dente de alho é triturado, a enzima liberada transforma a alicina no ácido alil-sulfônico que reage com ele próprio dando amônia, ácido pirúvico e a alicina - um composto extremamente odorífero. Presume-se que os constituintes do alho contendo grupamentos di-tio-alila reagem com grupamentos sulfidríla de enzimas, bem como com a acetil-CoA-SH, unidade fundamental na biossíntese do colesterol e dos triglicerídeos (Silva, 2000).

Foram observados, em experimentos utilizando a espécie *Allium cepa*, inibição das enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase, o que possivelmente seria a explicação para os efeitos de diminuição do colesterol, aumento do tempo de sangria (devido à diminuição na velocidade de agregação plaquetária) e efeito antiasmático. Os efeitos de substâncias isoladas de *Allium sativum* sobre os mecanismos do ácido araquidônico e sobre a agregação plaquetária foram descritos por Corrêa Junior et al.(1994). A alicina é um antibiótico poderoso, mas muito instável e acaba se polimerizando facilmente e resulta, dependendo das condições (destilação a vapor, maceração do óleo), em grande número de compostos como os dialil-sulfetos, metil-alil-sufetose aloenos.

Até o momento, um dos aspectos mais estudados sobre a farmacologia do alho é sua atividade antimicrobiana, por conta da alicina. Reconheceram-lhe propriedades bacteriostáticas e bactericidas, inclusive para *Mycobacterium tuberculosis*.

A alicina, por destruir os grupos tiólicos (-SH) essenciais à proliferação das bactérias, é uma substância mais bacteriostática (inibidora do crescimento de bactérias) do que propriamente bactericida (que destrói bactérias). Há estudos feitos mostrando sua ação em mais de 22 bactérias (*Streptococcus haemolyticus*, *Salmonella enteridis*, *Staphylococcus aureus*) (Adams, 1995).

Os aloenos são, aparentemente, responsáveis pelas atividades antitrombóticas do alho. A literatura cita ainda vários outros compostos com bioatividade para tratamento de sintomas ou doenças como hipertensão, artrite, diabete, arteriosclerose.

A ação antioxidante da alicina e do aloeno justificam o efeito do alho sobre as LDL, pois inibem a peroxidação lipídica por meio da inibição da enzima xantina oxidase e de eicosanóides. O alho também eleva a capacidade total antioxidante do organismo devido à ação dos bioflavonóides quercitina e campferol, por meio de um mecanismo mediado pelo óxido nítrico e, *in vitro*, age diretamente como varredor dos radicais livres. A alicina mostra analogia estrutural com o dimetilsulfeto, o qual possui uma boa capacidade varredora de radicais livres. A presença de selênio em sua composição também contribui com este efeito. Isto quer dizer que os compostos sulfurados aliados aos bioflavonóides incrementam a ação medicamentosa do alho (Ming et al., 1996).

#### **2.2.3.6 Óleo essencial de Aniz (*Pimpinella anisum* L.)**

O aniz, conhecido popularmente por erva-doce, é originário do Egito onde os egípcios cultivavam em quantidade para, das suas folhas e sementes tirarem alimento, bebidas e remédios. Suas sementes em infusão são anti-séptico reconfortante para constipações e tosse.

O óleo essencial em pequenas doses estimula a respiração e a circulação e em doses elevadas provoca perda de memória, problemas visuais e sonolência. A essência tem suas propriedades de vida ao anetol.

As propriedades farmacológicas mais importantes do óleo essencial são: digestivas, balsâmicas, diuréticas e analgésicas (Medicina Alternativa, 2005).

### **2.2.3.7 Óleo essencial de Aniz Estrelado (*Illicium verum*)**

O anis estrelado não é cultivado no Brasil, sendo importado principalmente da Europa. Possui coloração marrom e forte aroma característico, sendo muito mais forte que a erva-doce ou o funcho. É muito empregado pela indústria farmacêutica, de bebidas e perfumaria. Sua origem é tida como chinesa.

A parte do vegetal que se utiliza são os frutos com suas sementes. Muito rico em óleos essenciais, são utilizados principalmente como aromatizantes (Guerra et al., 1998).

As propriedades farmacológicas mais importantes do óleo essencial são: expectorante e carminativa.

### **2.2.3.8 Óleo essencial de Ginepro (*Juniperus communis*)**

O ginepro ou zimbro pertence à família das Cupressáceas. Seus frutos (bagas) são bolinhas azuis ou pretas, de sabor doce e resinoso. Também conhecido como fruto-de-genebra, junípero. De seus frutos é que se extrai o óleo essencial.

As propriedades farmacológicas mais importantes do óleo essencial são: anti-séptica, antimicrobiana, digestiva, diurética, balsâmicas e anti-reumáticas.

## 2.2.4 Pró-bióticos

O conceito de pró-biótico tem mudado através do tempo. Foi proposto pela primeira vez em 1965. Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (1998), pró-bióticos são cepas específicas de várias espécies de microrganismos que agem como auxiliares na recomposição da microbiota intestinal dos animais, diminuindo a concorrência dos microrganismos patogênicos ou indesejáveis. Para Fuller (1989), eles são suplementos alimentares compostos de microrganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal. Independentemente do conceito utilizado, os pró-bióticos trazem benefícios à saúde do hospedeiro, não deixam resíduos nos produtos de origem animal e não favorecem resistência às drogas (Nepomuceno & Andreatti, 2000).

Nos pró-bióticos as bactérias benéficas são introduzidas vivas na área intestinal. Muitas cepas de bactérias têm sido comercialmente usadas, sendo as espécies de *Lactobacillus*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacteria* e *Streptococci* as mais comuns. Os pró-bióticos podem conter apenas uma espécie de microrganismo ou mais (Turner et al., 2001). Há necessidade que as bactérias sejam hospedeiro-específicas, a fim de que a máxima eficácia do produto seja atingida. Ou seja, bactérias com ação pró-biótica em suínos pode não ter ação em aves.

Kelly e King (2001) relatam que os leitões nascem livres de contaminação microbiológica, mas, em questão de horas, já há colonização por *Lactobacillus*, *Bifideobacteria* e *Bacteróides*, correspondendo a 90% da microbiota normal de um suíno em aleitamento. Outros 5% da microbiota são representados por microrganismos anaeróbios facultativos (*E. coli* e *Enterococci*) e menos de 1% por microrganismos como *Clostridium* e *Staphylococcus* (Huyghebaert, 2003).

Do ponto de vista da produção animal, o interesse nos estudos sobre pró-bióticos está em elucidar os mecanismos de ação que resultem em aumento da produtividade. Os mecanismos de ação mais prováveis dos pró-bióticos são a exclusão competitiva, o antagonismo direto, o estímulo ao sistema imune e o efeito nutricional, mediante as melhorias na digestão e absorção de nutrientes.

Os microrganismos pró-bióticos de exclusão competitiva, quando adicionados à dieta e são viáveis, logo passam a prevalecer na microbiota, aderindo-se ao epitélio intestinal. Assim, a adesão de microrganismos patógenos é dificultada (Roth,

2000). Ao mesmo tempo, os microrganismos pró-bióticos aderidos à parede do epitélio intestinal também possuem uma maior facilidade de capturar e metabolizar nutrientes presentes no lúmen do que os microrganismos patógenos que não estão aderidos. Entretanto, a competição pelos nutrientes, como mecanismo da exclusão competitiva, ainda não foi claramente demonstrada (Menten, 2001).

O efeito de antagonismo direto se dá pela produção de ácidos orgânicos, ou substâncias antibióticas (bacteriocinas, nisina, acidofilina, peróxido de hidrogênio, etc.) pelos pró-bióticos (Vanbelle et al., 1990). As bactérias lácteas, por exemplo, reduzem o pH intestinal pela produção de ácidos orgânicos (principalmente ácido láctico). Patógenos como *E. coli* e *Salmonella spp.* se desenvolvem em pH mais elevado, havendo inibição do crescimento dessas populações. Além disso, as bactérias lácteas também produzem peróxido de hidrogênio, uma substância efetiva contra vírus e outras espécies de bactérias (Roth, 2000).

Os pró-bióticos, geralmente anaeróbios, também atuam como removedores de oxigênio, indisponibilizando o ambiente para bactérias patogênicas e favorecendo o crescimento de bactérias anaeróbias desejáveis.

A prevalência dos microrganismos pró-bióticos no intestino dificulta a fixação dos patógenos, por exclusão competitiva e/ou antagonismo direto. Assim, haverá menor produção de amônia, toxinas e amins pelos patógenos, contribuindo para a integridade do epitélio intestinal. Sugere-se, então, que os pró-bióticos afetam a permeabilidade do epitélio intestinal, proporcionando maior eficiência na digestão (secreção de enzimas) e absorção de nutrientes (enterócitos íntegros). Além de proteger o epitélio intestinal, os pró-bióticos evitam que os patógenos utilizem aminoácidos, minerais e carboidratos para fermentação e produção de toxinas. Dessa maneira, espera-se que o animal hospedeiro melhore a eficiência alimentar e o desempenho.

Os pró-bióticos também produzem enzimas, vitaminas e desconjugam sais biliares, facilitando a digestão. Assim, podem transformar compostos razoavelmente solúveis e não digeríveis em compostos altamente solúveis. O *Bacillus subtilis* e o *Bacillus licheniformis* possuem atividade secretora de enzimas proteolíticas, aminolíticas e lipolíticas, auxiliando o hospedeiro a digerir certos tipos de substratos (Jensen & Jensen, 1992).

Há uma terceira possibilidade dos pró-bióticos atuarem na melhora da nutrição. As bactérias produtoras de ácido láctico reduzem o pH do conteúdo

intestinal. Esta acidificação pode facilitar e aumentar o transporte de ácidos graxos voláteis através do epitélio intestinal, pois em pH abaixo de 6,0 os ácidos se apresentam na forma dissociada, dez vezes mais absorvida que na forma não dissociada (Leedle, 2000). Uma vez absorvidos, parte destes ácidos graxos pode se transformar em energia para os enterócitos, melhorando o metabolismo celular e, conseqüentemente, a absorção de nutrientes.

### **2.2.5 Ácidos Orgânicos**

Os ácidos orgânicos são substâncias que contêm uma ou mais carboxilas em sua molécula. Em geral, quando o termo ácido orgânico é utilizado em nutrição animal, refere-se a ácidos fracos de cadeia curta, que produzem menor quantidade de prótons por moléculas ao se dissociarem (Partanen & Mroz, 1999).

Por serem compostos ácidos, seu modo mais esperado de atuação é reduzir o pH do meio no qual ele é inserido; no caso, o trato gastrintestinal dos leitões. Estes animais, quando recém-desmamados apresentam-se ineficientes no que diz respeito à manutenção do pH gástrico apropriado às dietas a base de milho e soja, o que diminui o aproveitamento do alimento fornecido (Corassa et al., 2006).

Os ácidos orgânicos apresentam efeitos fisiológicos relacionados com o sistema imune, com o esvaziamento gástrico e motilidade intestinal, absorção de minerais e água.

Os mecanismos de ação dos ácidos orgânicos não são completamente conhecidos, mas seguem três linhas básicas: 1) a acidificação da dieta reduz o pH dos conteúdos gástrico e intestinal, melhorando a função catalítica das enzimas digestivas; 2) a redução do pH estomacal pode diminuir a taxa de passagem gástrica, aumentando o tempo da digestão protéica; e 3) redução de coliformes e outros patógenos no trato digestório (Moraes et al., 1990).

As propriedades promotoras de crescimento podem ser devidas ao acidificante tornar os nutrientes mais digestíveis, ou uma melhora no metabolismo, ou ainda, uma melhora na composição da microbiota que ocupa o trato gastrintestinal. Certos ácidos orgânicos têm comprovada seletividade microbiana.

O efeito antibacteriano dos ácidos orgânicos é extremamente complexo. Cada ácido orgânico possui propriedades diferentes contra cada bactéria envolvida dependendo do pH, de sua concentração, de seu estado de dissociação, entre outros fatores (Gauthier, 2005).

Brul e Coote (1999) em uma revisão sobre a conservação de alimentos, listaram os modos de ação dos ácidos orgânicos sob as bactérias: destruição da membrana celular; inibição das funções metabólicas fundamentais; modificação do pH interno e acúmulo de ânions tóxicos nas bactérias.

Esses mesmos autores demonstraram que somente os ácidos orgânicos não dissociados (não ionizados) podem exercer um efeito antibacteriano significativo. Eles atuam da seguinte forma: quando não ionizados, podem se difundir passivamente através da parede celular das bactérias, dissociar-se, quando o pH interno é superior, e promover a diminuição do pH interno. Dependendo do grau de redução do pH interno, podem-se acumular ânions no interior da célula bacteriana, modificando a pressão osmótica interna, além de serem tóxicos para a bactéria. A consequência é a interrupção da síntese de ácido nucléico, bloqueando as reações enzimáticas e alterando o transporte através da membrana.

Experimentos com suínos mostraram os efeitos positivos dos ácidos orgânicos utilizados em sua alimentação, no que diz respeito ao desempenho desses animais (Partanen e Mroz, 1999).

Segundo Roth e Kirchgessner (1998), a adição de ácido fórmico na dieta de suínos não afetou grandemente a população bacteriana na digestão dentro do íleo, ceco e cólon, mas se observou uma redução considerável com relação ao número de patógenos em potencial, tais como *Escherichia coli* e *Enterococcus*. Ao contrário, a redução dos Lactobacilos benéficos foi em geral menor. Estes autores afirmam ainda que nem todos os ácidos tenham igual efeito. Os ácidos acético e propiônico promovem uma melhora pouco significativa sobre o desempenho dos leitões após o desmame e os ácidos tartárico, succínico e adípico ocasionam baixa palatabilidade e menor consumo da ração fornecida a estes animais.

Maribo et al., 2000, utilizando 2 % de ácido benzóico na ração de leitões lactentes e 1% de ácido benzóico em ração para leitões desmamados, detectaram maior quantidade deste ácido benzóico no estômago e menor quantidade no intestino delgado. O número de bactérias patogênicas foi menor do que nos animais que receberam ração controle, o mesmo acontecendo em relação à frequência de

diarréia, também com relação aos tratamentos com 0,7% de ácido láctico e 0,7% de ácido fórmico. Resultados de desempenho, como ganho de peso diário e conversão alimentar mostraram-se superiores nos animais que receberam ração com ácido benzóico, em relação aos demais tratamentos.

Segundo Adams (1999), a presença de acidificantes na dieta pode ter influência positiva no metabolismo intermediário, reduzindo a produção de poliaminas tóxicas e de amônia no íleo e no ceco. As poliaminas e a amônia são produtos do catabolismo dos aminoácidos. Portanto, pode-se esperar que os acidificantes ajudem na digestibilidade dos aminoácidos se forem acrescentados às rações de leitões desmamados.

Outros ácidos, denominados hidrocarboxílicos (cítrico, láctico e málico), também apresentam certa atividade antibacteriana. Isso é provavelmente devido ao fato deles serem fortes quelatos metálicos.

### **3 Material e Métodos**

Foram realizados três experimentos no Setor de Suinocultura da Unidade de Apoio à Pesquisa em Zootecnia do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal do CCTA-UENF, na cidade de Campos dos Goytacazes, RJ, entre os meses de outubro a dezembro de 2007 e março a maio de 2008.

Os experimentos I e II foram conduzidos com leitões em fase de creche, desmamados aos 21 dias de idade, tendo duração de 42 dias. O Experimento I teve como objetivos avaliar os efeitos do uso de antimicrobiano e óleos essenciais sobre o desempenho dos animais, bem como a morfometria dos órgãos, histologia do epitélio intestinal e sobre a microbiologia intestinal dos leitões. O Experimento II teve como objetivo avaliar o efeito de antimicrobianos, óleos essenciais, pró-bióticos ou ácidos orgânicos sobre o desempenho de leitões.

O Experimento III consistiu em um Ensaio de Metabolismo para avaliar os efeitos do uso de antimicrobiano e dos óleos essenciais sobre a digestibilidade dos nutrientes das rações experimentais.

#### **3.1 Instalações e animais**

##### **3.1.1 Experimentos I e II**

Os animais foram alojados em galpão de alvenaria coberto com telhas de cimento amianto, dividido em 20 baias medindo 1,80 m X 2,00 m, com piso de concreto, comedouro de alvenaria e bebedouro tipo chupeta.

Foram utilizados 60 leitões mestiços (Landrace X Large White X Pietrain), machos castrados e fêmeas, desmamados aos 21 dias de idade, com peso inicial de  $7,2 \pm 1,3$  kg, no experimento I e  $6,5 \text{ kg} \pm 1,0$  kg, no experimento II. Cada baia foi composta por 3 animais (unidade experimental).

### 3.1.2 Experimento III

Para avaliar a digestibilidade das rações experimentais, 20 suínos machos castrados, com 63 dias de idade e peso vivo médio  $22,0 \text{ kg} \pm 5,0 \text{ kg}$  foram alojados em gaiolas de metabolismo, segundo técnica descrita por Fialho (1979), com algumas modificações.

### 3.2 Rações experimentais

A ração referência (tabela 1) foi formulada utilizando-se milho, farelo de soja, suplementos minerais e vitamínicos, atendendo às exigências nutricionais preconizadas por Rostagno et al. (2005), para as fases pré-inicial e inicial. O composto à base de óleo essencial foi adicionado à ração referência em substituição ao inerte nas quantidades de 0,02%, 0,04% e 0,06%. Já o antibiótico, o pró-biótico e o composto à base de ácidos orgânicos foram adicionados às rações nas respectivas quantidades de 0,2%, 0,2% e 0,3%.

O composto com óleos essenciais utilizado, o Tecnaroma ZTA Herbal Mix, foi doado pela empresa New Products Comercial Agrícola e Veterinária Ltda.

O antimicrobiano utilizado foi o antibiótico Trissulfim<sup>®</sup>, classificado como um antimicrobiano geral, com propriedades antifúngica e antiprotozoária. Seus princípios ativos são: Bromexina, Sulfonamidas e Trimetropima.

O pró-biótico utilizado foi o Biotop<sup>®</sup> (*Bacillus subtilis* -  $10^9$  U.F.C/g do produto).

O complexo de ácidos orgânicos utilizado foi o Ouroforte<sup>®</sup>, aditivo acidificante composto por uma associação de ácidos orgânicos e um inorgânico (ácido benzóico, ácido cítrico, ácido fumárico e ácido fosfórico).

Para o composto de óleos essenciais, foram utilizados três níveis, sendo o intermediário (0,04%) o recomendado pelo fabricante para a categoria animal em estudo.

O suplemento mineral-vitamínico (Polimix suínos) foi formulado pela FATEC S/A e utilizado em preparação recomendada pela empresa.

### 3.2.1 Experimentos I e III

Nestes experimentos foram testadas cinco rações (tratamentos)

- T1- Ração referência (controle); (C)
- T2- Ração referência + 0,2% antibiótico; (A)
- T3- Ração referência + 0,02% Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>; (TH1)
- T4- Ração referência + 0,04% Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>; (TH2)
- T5- Ração referência + 0,06% Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>; (TH3)

### 3.2.2 Experimento II

Neste experimento foram testados quatro tratamentos:

- T1- Ração referência + 0,06% Tecnaroma Herbal<sup>®</sup>; (TH)
- T2- Ração referência + 0,2% antibiótico; (A)
- T3- Ração referência + 0,2% pró-biótico; (PO)
- T4- Ração referência + 0,3% Ácido Orgânico; (AO)

Nos Experimentos I e II foram utilizadas duas rações referências. A ração inicial I foi fornecida do 1º ao 21º dia de experimentação, correspondente a 21-41 dias de idade, enquanto que a ração inicial II, do 22º ao 42º dias de experimentação, correspondendo aos 42-63 dias de idade. No Experimento III utilizou-se apenas a ração inicial II.

As composições percentuais das rações referências, assim como a composição química calculada, encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1- Composição percentual e valores calculados das rações basais

<b>Ingredientes (Kg)</b>	<b>Ração Inicial I</b>	<b>Ração Inicial II</b>
Milho comum	50,40	64,45
Farelo de soja	33,30	30,00
Leite pó	5,00	-
Açúcar cristal	5,00	1,00
Óleo de soja	2,30	-
Fosf. Bicálcico	1,40	1,80
Calcário	0,70	0,85
Sal	0,25	0,25
S. vit. e min. <sup>1</sup>	0,50	0,50
L-lisina HCl 78%	0,30	0,30
DL-metionina 99%	0,15	0,15
L- treonina	0,10	0,10
Inerte (areia) <sup>2</sup>	0,60	0,60
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição química calculada</b>		
Energia digestível (kcal/kg)	3400,00	3300,00
Proteína bruta (%)	20,50	19,5
Cálcio (%)	0,85	0,85
Fósforo total (%)	0,70	0,70
Fósforo disponível (%)	0,45	0,42
Lisina digestível (%)	1,34	1,19
Metionina digestível (%)	0,46	0,39

<sup>1</sup>Níveis de garantia por kg do produto: Vit. A – 3.500.000 UI; Vit. D<sub>3</sub> – 500.000 UI; Vit. E – 5.000 mg; Vit. K – 1.000 mg; Vit. B<sub>1</sub> – 400 mg; Vit. B<sub>2</sub> – 1.600 mg; Vit. B<sub>6</sub> – 500 mg; Vit B<sub>12</sub> – 11.000 mcg; Ácido Fólico – 350 mg; Biotina – 10 mg; Niacina – 14000 mg; Pantotenato de cálcio – 6.000 mg; Co – 9.000 mg; Fe – 48.000 mg; I – 125 mg; Mn – 25.000 mg; Se – 75 mg; Antioxidante – 2000 mg; Veículo q.s.p. – 1.000 g

<sup>2</sup>Nos três experimentos, os microingredientes testados foram adicionados às rações referências em substituição parcial e/ou total ao inerte.

### 3.3 Tecnaroma ZTA Herbal Mix®

O produto comercial utilizado como óleo essencial foi o Tecnaroma ZTA Herbal Mix®. Esse produto foi doado pela empresa New Products.

O Tecnaroma ZTA Herbal Mix é um produto classificado como aditivo sensorial, composto por óleos essenciais aromáticos e extratos de plantas e ervas aromáticas, em suporte adequado ao cumprimento das normas, conforme decreto lei nº 107 da Itália e 88/388 da CEE.

Vários componentes contidos no Tecnaroma Herbal® possuem as seguintes características: antibacteriana, antimicrobiana, antioxidante e antiinflamatória.

Os óleos essenciais que compõem a mistura, em pó, são: aniz, aniz estrelado, timo ou tomilho, orégano, alho, eucalipto (*globulus e citriodora*) e ginepro ou zimbro.

### 3.4 Experimento I – Ensaio de Desempenho I

Para avaliar o desempenho dos animais e suas características morfofisiológicas, foram utilizados 60 leitões mestiços (Landrace X Large White X Pietrain), distribuídos em delineamento de blocos casualizados com cinco tratamentos e quatro repetições com três animais por baia, representando a unidade experimental. O peso inicial dos animais foi utilizado como critério para formação dos blocos.

A temperatura foi verificada diariamente através de termômetro de máxima e mínima, localizado em uma baia vazia a meia altura dos animais. As temperaturas mínimas e máximas, durante o período experimental, variaram de  $22,45 \pm 1,50$  a  $31,54 \pm 3,12$ , respectivamente.

Os animais foram alimentados à vontade durante todo o período experimental de 42 dias.

### **3.4.1 Características Avaliadas**

#### **3.4.1.1 Desempenho dos Animais**

Como características de desempenho, foram analisados o consumo de ração médio diário (CRMD), o ganho de peso médio diário (GPMD) e a conversão alimentar (CA). Para determinação do ganho de peso, os animais foram pesados semanalmente, do início ao término do experimento. Para determinar o consumo de ração, a quantidade de ração fornecida e as sobras também foram pesadas semanalmente. A conversão alimentar foi obtida por meio da relação entre o consumo de ração e o ganho de peso durante o período experimental. Para o cálculo destas variáveis, o período experimental foi dividido em três fases: 1 a 21 dias de experimentação; 22 a 42 dias de experimentação e 1 a 42 dias de experimentação.

#### **3.4.1.2 Morfometria dos órgãos**

No 42º dia do Experimento I, após um jejum alimentar prévio de doze horas, um animal de cada unidade experimental (baia) foi abatido, sendo feita a abertura da cavidade abdominal por incisão longitudinal, retirando-se e pesando-se os órgãos digestivos (trato gastrintestinal total, estômago cheio, pâncreas, fígado, intestino delgado cheio, intestino grosso cheio) e os órgãos não digestivos (baço e rins). Os dados obtidos referem-se ao peso absoluto dos órgãos e foram utilizados para análise estatística.

### **3.4.1.3 Histologia do epitélio intestinal (Microscopia ótica)**

Imediatamente após a retirada e pesagem do intestino delgado, segmentos de cerca de 5 cm de comprimento do duodeno (até 15 cm do piloro), jejuno (1,5 m cranialmente à junção íleo-cecal) e íleo (20 cm da junção íleo-cecal) foram retirados, abertos ao longo do mesentério, fixados em papel manteiga e acondicionados em formol. As amostras foram retiradas imediatamente após o abate para não prejudicar a integridade do epitélio intestinal. As amostras foram emblocadas em historesina. Após a secagem dos blocos, foram feitos os cortes de 3  $\mu\text{m}$  em micrótomo automático.

A confecção das lâminas para as análises morfométricas foi realizada no Laboratório de Histologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, seguindo a técnica descrita por Junqueira & Junqueira (1983), com algumas adaptações.

As análises morfométricas dos cortes histológicos do intestino delgado dos leitões foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (DMV/UFLA), utilizando o microscópio óptico (OLYMPUS BX50) com aumento de 40 vezes. Foram selecionados e medidos, comprimentos em linha reta de acordo com a unidade adotada ( $\mu\text{m}$ ), 10 vilosidades e 10 criptas, bem orientadas, de cada região intestinal, por animal. As relações das vilosidades com as criptas também foram calculadas. As medidas de altura de vilosidades foram tomadas a partir da base superior da cripta até o ápice da vilosidade e as criptas foram medidas entre as vilosidades da base inferior até a base superior da cripta.

### **3.4.1.4 Microbiologia intestinal – Contagem total de bactérias**

No momento do abate, foram coletadas amostras do conteúdo intestinal com a finalidade de determinar a contagem total de bactérias presentes, como também a determinação gram.

De cada animal abatido, isolou-se uma seção do intestino delgado, de aproximadamente 30 cm, separada por ligaduras, removida, acondicionada em sacos de plástico, colocada em caixa térmica contendo gelo e imediatamente transportada para o setor de microbiologia do LSA/CCTA/UENF (Laboratório de Sanidade Animal/Universidade Estadual do Norte Fluminense).

Para análise microbiológica global, foi utilizada a contagem de bactérias em placas pelo método de diluições descrito por Neder (1992), com algumas adaptações.

De cada uma das 20 amostras foi coletado 1 ml do conteúdo intestinal, entre as porções final do duodeno e inicial do jejuno, transferindo esse volume para “erlenmeyers” e completando-o para 100 ml de solução salina (0,84%). Em seguida, foram realizadas diluições decimais, de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ , em tubos de ensaio contendo 9 ml de solução salina (0,84%), transferindo-se 0,1 ml de cada tubo para placas de “Petri” (em duplicatas) contendo o meio de cultura agar nutriente. Logo após esse procedimento, as placas foram incubadas em estufa de cultura bacteriológica a 37°C, por 48 horas. Posteriormente, foram selecionadas as placas que apresentavam entre 30 e 300 colônias para contagem de colônias. Os resultados obtidos foram expressos como log. na base 10 da contagem, por grama do conteúdo da digesta (UFC/g).

### **3.5 Experimento II – Ensaio de Desempenho II**

Para avaliar o desempenho dos animais foram utilizados 60 leitões mestiços (Landrace X Large White X Pietrain), machos castrados e fêmeas, desmamados aos 21 dias de idade, com peso inicial de  $6,5 \pm 1,0$  kg.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com quatro tratamentos e cinco repetições com três animais por baia, representando a unidade experimental. O peso inicial dos animais foi utilizado como critério para formação dos blocos.

Os animais foram alimentados à vontade durante todo o período experimental de 42 dias.

### 3.5.1 Desempenho dos Animais

Como características de desempenho, foram analisados o consumo de ração médio diário (CRMD), o ganho de peso médio diário (GPMD) e a conversão alimentar (CA). Estas avaliações foram realizadas como descrito para o experimento I.

### 3.6 Experimento III – Ensaio de Digestibilidade

Para a determinação dos valores de digestibilidade, foram utilizados vinte suínos machos castrados mestiços, com 63 dias de idade e peso vivo médio 22,0 kg  $\pm$  5,0 kg, em delineamento de blocos casualizados, com cinco tratamentos, quatro repetições e um animal por gaiola de metabolismo (unidade experimental). Os tratamentos corresponderam à ração referência, à ração com antibiótico e aos três tratamentos contendo três níveis crescentes dos óleos essenciais.

A fase experimental teve duração de doze dias, sendo sete dias de adaptação às rações experimentais e às instalações e cinco dias de consumo prescrito com coleta de fezes.

Foi utilizado o método de coleta total para a determinação dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes das rações experimentais. As rações foram fornecidas aos animais, de acordo com seu peso metabólico.

As coletas de fezes foram realizadas durante cinco dias (manhã e tarde) e teve início após sete dias de adaptação. As amostras de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos identificados e congeladas para posterior análise.

Posteriormente, esas amostras foram descongeladas e homogeneizadas, retirando-se uma sub-amostra de, aproximadamente, 400 g. As amostras de fezes foram secas em estufas de circulação de ar forçada, a 65°C e durante 72 horas, e moídas em moinho tipo Willey, em peneira crivada de 1 mm.

Essas amostras foram enviadas para análise de matéria seca, energia bruta e proteína bruta.

As análises bromatológicas das rações experimentais e das fezes foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do LZNA/UENF (Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal/ Universidade Estadual do Norte Fluminense). A determinação de energia bruta foi feita em bomba calorimétrica automática modelo PARR 1261. As análises de matéria seca e proteína bruta foram realizadas de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1980).

Os cálculos dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da energia bruta, proteína bruta e matéria seca das rações experimentais, pelo método de coleta total, foram obtidos utilizando-se a equação (Andriguetto, 1986) abaixo:

$$\text{CDA (\%)} = \frac{\text{Nutr I (g)} - \text{Nutr E (g)}}{\text{Nutr I (g)}} \times 100$$

em que:

Nutr I = nutriente ingerido, Nutr E = nutriente excretado nas fezes

### 3.7 Modelo Estatístico e Análise estatística

O modelo estatístico utilizado para análise de consumo de ração médio diário (CRMD), ganho de peso médio diário (GPMD), conversão alimentar (CA), peso dos órgãos digestivos e não digestivos (rins, baço, pâncreas, fígado, estômago, intestino delgado, ceco, intestino grosso), parâmetros morfológicos e microbiológicos fecais foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$$

Sendo:

$Y_{ij}$ : valor observado na parcela que recebeu o tratamento  $i$  no bloco  $j$ ;

$\mu$  : média geral;

$T_i$ : efeito do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1,2,3,4,5$  (exp. I e III) e  $i = 1,2,3,4$  (exp. II);

$B_j$ : efeito do bloco  $k$ , sendo  $k = 1,2,3,4,5$  (exp. I e III) e  $k = 1,2,3,4$  (exp. II);

$e_{ij}$  : erro aleatório atribuído à observação  $Y_{ij}$  que, por hipótese, tem distribuição normal de média zero e variância  $\sigma^2$ .

A análise estatística dos parâmetros estudados foi realizada utilizando o programa SAEG – versão 7.1 (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas), desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa, utilizando-se a Análise de Variância, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo Teste de Student Newman Keuls (SNK), em nível de 5% de probabilidade.

As características de desempenho do experimento I foram submetidas à Análise de Regressão, sendo a resposta das variáveis analisadas avaliada em função da decomposição da soma de quadrados referentes aos níveis do produto testado (Tecnaroma ZTA Herbal Mix<sup>®</sup>) em seus componentes (linear, quadrático e cúbico).

## 4 Resultados e Discussão

### 4.1 Experimento I – Ensaio de Desempenho I

#### 4.1.1 Desempenho dos animais

As médias das variáveis de desempenho são apresentadas, em gramas, nas tabelas 2, 3 e 4, respectivamente para os períodos de 1 a 21, 22 a 42 e 1 a 42 dias de experimentação.

As equações de regressão das variáveis de desempenho, em função dos níveis de inclusão do produto Tecnaroma Herbal, são apresentadas na tabela 5.

Tabela 2. Consumo de ração médio diário (CRMD, g/dia), Ganho de peso médio diário (GPMD, g/dia) e Conversão alimentar (CA) de leitões de 1 a 21 dias de experimentação.

Tratamentos	Variáveis <sup>1</sup>		
	CRMD	GPMD	CA
Controle	403	239	1,71
Antibiótico	397	245	1,65
Tecnaroma Herbal 0,02% (TH1)	393	251	1,57
Tecnaroma Herbal 0,04% (TH2)	392	292	1,36
Tecnaroma Herbal 0,06% (TH3)	384	239	1,46
Média	394	258	1,55
Coeficiente de Variação (CV) (%)	5,608	11,942	14,217

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada variável, diferem entre si pelo Teste SNK (P<0,05).

Tabela 3. Consumo de ração médio diário (CRMD, g/dia), Ganho de peso médio diário (GPMD, g/dia) e Conversão alimentar (CA) de leitões de 22 a 42 dias de experimentação.

Tratamentos	Variáveis <sup>1</sup>		
	CRMD	GPMD	CA
Controle	1.019 <sup>b</sup>	652 <sup>b</sup>	1,56 <sup>a</sup>
Antibiótico	1.030 <sup>b</sup>	691 <sup>ab</sup>	1,49 <sup>a</sup>
Tecnaroma Herbal 0,02% (TH1)	1.167 <sup>ab</sup>	755 <sup>ab</sup>	1,55 <sup>a</sup>
Tecnaroma Herbal 0,04% (TH2)	1.234 <sup>a</sup>	877 <sup>a</sup>	1,42 <sup>ab</sup>
Tecnaroma Herbal 0,06% (TH3)	1.158 <sup>ab</sup>	869 <sup>a</sup>	1,34 <sup>b</sup>
Média	1.121	769	1,47
Coeficiente de Variação (CV) (%)	7,835	12,772	5,491

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada variável, diferem entre si pelo Teste SNK (P<0,05).

Tabela 4. Consumo de ração médio diário (CRMD, g/dia), Ganho de peso médio diário (GPMD, g/dia) e Conversão alimentar (CA) de leitões de 1 a 42 dias de experimentação.

Tratamentos	Variáveis <sup>1</sup>		
	CRMD	GPMD	CA
Controle	617 <sup>b</sup>	414 <sup>b</sup>	1,49 <sup>a</sup>
Antibiótico	633 <sup>b</sup>	447 <sup>b</sup>	1,42 <sup>a</sup>
Tecnaroma Herbal 0,02% (TH1)	774 <sup>ab</sup>	503 <sup>ab</sup>	1,54 <sup>a</sup>
Tecnaroma Herbal 0,04% (TH2)	842 <sup>a</sup>	584 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a</sup>
Tecnaroma Herbal 0,06% (TH3)	773 <sup>ab</sup>	603 <sup>a</sup>	1,28 <sup>b</sup>
Média	728	510	1,43
Coeficiente de Variação (CV) (%)	13,323	14,294	5,371

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada variável, diferem entre si pelo Teste SNK (P<0,05).

Tabela 5. Equações de regressão das variáveis de desempenho, em função dos níveis de inclusão do produto Tecnaroma Herbal, avaliadas em cada período de experimentação

Período de experimentação (dias)	Variáveis	Equação de Regressão <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
1 a 21	-	ns	-
22 a 42	CRMD	$Y = 1,0164 + 10,8185^{**}X - 140,166^{*}X^2$	0,46
	GPMD	$Y = 0,6726 + 3,8503^{**}X$	0,44
	CA	$Y = 1,589 - 4,0102^{**}X$	0,60
1 a 42	CRMD	$Y = 0,6144 + 11,1607^{**}X - 141,208^{*}X^2$	0,45
	GPMD	$Y = 0,4288 + 3,2475^{**}X$	0,51
	CA	$Y = 1,546 - 3,5778^{**}X$	0,49

<sup>1</sup> ns= não significativo; \* significativo a 5% de probabilidade; \*\* significativo a 1% de probabilidade

No período experimental de 1 a 21 dias não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ) para nenhuma das variáveis avaliadas, isto é, o aumento dos níveis do produto não influenciou, positiva ou negativamente, o desempenho dos animais.

Durante os períodos de 22 a 42 e 1 a 42 dias de experimentação, os animais que receberam o tratamento TH2 apresentaram maiores consumos ( $P < 0,05$ ), sendo observado um efeito quadrático negativo dos níveis do produto para esta característica. Com relação ao GPMD, os animais que receberam os tratamentos TH2 e TH3 apresentaram os maiores valores ( $P < 0,05$ ). Para esta variável, foi observado um efeito linear positivo dos níveis do produto. Para a CA, o melhor valor ( $P < 0,05$ ) foi observado nos animais que receberam o tratamento TH3, com um efeito linear negativo dos níveis do produto testado. Considerando os resultados de ganho de peso, a redução no consumo de ração em detrimento do aumento do nível do produto não foi suficiente para deprimir o desempenho dos animais que receberam o tratamento TH3, o que pode ser justificado pela melhor conversão alimentar apresentada por estes animais. A melhor CA pode ter sido resultado de uma melhor absorção dos nutrientes, aliada ao menor gasto de energia e proteína para a manutenção da integridade do trato gastrintestinal (Utiyama, 2004).

Os animais que receberam tratamento sem aditivo (controle) apresentaram pior desempenho.

O melhor desempenho dos animais que receberam óleos essenciais na dieta (TH2 e TH3) pode ser devido ao efeito positivo da atividade enzimática, que se baseia no fato de que os óleos essenciais podem estimular a produção de saliva e de sucos gástrico e pancreático, influenciando positivamente a secreção de enzimas digestivas, melhorando a digestibilidade dos nutrientes (Mellor, 2000).

Há também o efeito antimicrobiano, considerado o principal modo de ação dos óleos essenciais. O efeito antimicrobiano está relacionado, principalmente, à alteração da permeabilidade e integridade da membrana celular bacteriana, o que permite que atuem como agentes bactericidas ou bacteriostáticos, causando efeitos interativos com a fisiologia do animal, como a economia de nutrientes, o efeito protetor contra a produção de toxinas no trato gastrintestinal, o efeito no controle de doenças subclínicas e o efeito metabólico (Menten, 2002). Além desses efeitos, pode-se citar também o fato de que a adição de óleos essenciais e extratos vegetais proporcionam o crescimento de microrganismos benéficos, favorecendo o desempenho animal (Zuanon et al., 1998; Lima, 1999).

Os dados encontrados neste experimento diferem dos encontrados por Utiyama et al. (2006), Oetting et al. (2006) e Costa et al. (2007), que, no geral, observaram melhor desempenho nos animais que receberam rações experimentais com antibiótico, em comparação aos animais que receberam ração contendo diferentes tipos e níveis de extratos vegetais.

Costa et al. (2007), trabalhando com leitões de 21 a 35 dias, observaram que os animais que receberam o tratamento antimicrobiano apresentaram melhor CA que a média dos que receberam os diferentes tratamentos com extratos vegetais (extrato de cravo, extrato de orégano e extrato de cravo + extrato de orégano). No período de 21 a 56 dias de idade, os animais do tratamento antimicrobiano também apresentaram os melhores resultados de consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar, em comparação àqueles que receberam os diferentes tratamentos com extratos vegetais.

Oetting et al. (2006), estudando agentes antimicrobianos e níveis de extratos vegetais (constituído de óleo essencial de cravo, tomilho e orégano, acrescido dos princípios ativos eugenol e carvacrol) em dietas de leitões recém-desmamados, também observaram aumentos significativos no consumo diário de ração e no ganho

diário de peso (GDP) dos animais que receberam antimicrobianos na ração em relação aos animais do tratamento controle e dos tratamentos com extratos vegetais.

Utiyama et al. (2006), estudando agentes antimicrobianos, pró-bióticos, pré-bióticos e extratos vegetais (mistura de alho, cravo, canela, pimenta, tomilho e os princípios ativos cinemaldeído e eugenol), observaram que, nos primeiros 14 dias de experimentação, houve maior consumo diário de ração (CDR) para os tratamentos antimicrobiano e pré-biótico, em relação ao tratamento com extrato vegetal. No período de 15 a 35 dias de experimentação, o CDR foi superior para o tratamento antimicrobiano em relação aos tratamentos pró-biótico e extrato vegetal. O GDP no período de 15 a 35 dias de experimentação do tratamento antimicrobiano foi superior aos tratamentos controle, pró-biótico e extrato vegetal, os quais não diferiram entre si.

Algumas teorias podem ser utilizadas para explicar a diferença entre os dados obtidos no presente experimento em comparação aos supracitados.

Uma dessas teorias seria o fato que, para que os óleos essenciais possam apresentar os dois efeitos mais comumente observados, isto é, o antimicrobiano e o de estimulação do sistema enzimático, e para que estes possam ser observados in vivo, os níveis de inclusão na dieta devem ser elevados ou suplementados em combinações de diferentes óleos, cujos diferentes componentes se completam e reforçam sua ação sobre o organismo. A forma como estes componentes se manifestam é através de seus princípios ativos, que precisam ter suas concentrações aumentadas para apresentarem efeito em produtos comerciais (Lambert et al., 2001).

Essa associação de princípios ativos pode ser explicada através da sinergia entre os princípios ativos. Algumas pesquisas já demonstraram a existência de um efeito sinérgico entre componentes primários e secundários das plantas (Kamel, 2000), sendo que os componentes secundários (na maior parte, os princípios ativos em óleos essenciais) atuam como potencializadores dos componentes primários.

As teorias e as pesquisas realizadas podem, possivelmente, explicar os melhores resultados, neste trabalho, obtidos em animais que receberam os tratamentos contendo os três diferentes níveis de óleos essenciais.

Porém, como os resultados são bastante contraditórios com os encontrados na literatura, bem como a pequena quantidade de trabalhos realizados com óleos essenciais e extratos vegetais de plantas, vários estudos ainda são necessários para

determinar, com precisão, a eficácia assim como os níveis ideais de inclusão e as melhores combinações de óleos essenciais, uma vez que pelos resultados deste experimento, estes produtos podem, com grandes chances de sucesso, ser utilizados como aditivos alternativos aos agentes antimicrobianos como promotores do crescimento em dietas de leitões.

#### 4.1.2 Morfometria dos órgãos

Os resultados dos pesos dos órgãos digestivos, em gramas, encontram-se na tabela 6. Não foram observadas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos, para os pesos dos rins, baço e estômago.

Tabela 6. Peso dos Órgãos digestivos de leitões dos 21 aos 63 dias de idade, de acordo com os tratamentos.

Tratamentos <sup>2</sup>	Peso dos órgãos (g) <sup>1</sup>					
	Rins	Baço	Fígado	Estômago	Int. delg.	Int. grosso
Controle	85	23	362 <sup>c</sup>	188	693 <sup>b</sup>	857 <sup>b</sup>
Antibiótico	762	27	457 <sup>b</sup>	259	745 <sup>ab</sup>	985 <sup>ab</sup>
TH1	82	26	427 <sup>b</sup>	241	665 <sup>b</sup>	1.139 <sup>ab</sup>
TH2	75	22	404 <sup>bc</sup>	195	660 <sup>b</sup>	975 <sup>ab</sup>
TH3	90	27	552 <sup>a</sup>	237	865 <sup>a</sup>	1.234 <sup>a</sup>
CV (%)	14,982	18,541	6,559	29,062	11,807	14,112

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada variável, diferem entre si pelo Teste SNK ( $P<0,05$ ).

<sup>2</sup> TH1 - 0,02% Tecnaroma Herbal®; TH2 - 0,04% Tecnaroma Herbal®; TH3 - 0,06% Tecnaroma Herbal®.

Os animais que receberam o tratamento TH3, com 0,06% de inclusão dos óleos essenciais, apresentaram as maiores médias de peso do fígado, intestino delgado e intestino grosso. O maior peso do intestino delgado e do intestino grosso no TH3 pode ser explicado pela menor taxa de descamação do epitélio intestinal,

proporcionada pela inclusão de óleos essenciais na dieta dos animais que receberam o tratamento TH3. A descamação, em sua maioria, é provocada por agentes agressores. Isso quer dizer que, provavelmente, este tratamento foi o que provocou menos agressão à mucosa intestinal dos animais, refletindo em um maior peso absoluto dos órgãos (Burrin et al., 2001).

Um dos modos de ação dos agentes antimicrobianos está relacionado à redução na quantidade de microrganismos produtores de toxinas aderidos ao epitélio intestinal e, conseqüentemente, à redução da espessura da parede intestinal (Anderson et al., 1999). Esse efeito proporciona economia de nutrientes pelo animal para manutenção dos tecidos do trato gastrintestinal (Lima, 1999), favorecendo seu desempenho. Esse modo de ação sobre os microrganismos presentes no intestino de leitões pode proporcionar menor fermentação microbiana e diminuir a produção de ácidos graxos voláteis que fornecem boa parte da energia exigida para o desenvolvimento dos enterócitos (Lin & Visek, 1991). No cólon, até 60-70% da energia utilizada pelas células epiteliais provêm dos produtos da fermentação microbiana (Cummings & Macfarlane, 1991). Assim, a menor produção de ácidos graxos voláteis pode acarretar menor taxa de replicação celular no epitélio intestinal de leitões que recebem antimicrobianos na dieta, ocasionando redução dos pesos relativos dos intestinos delgado e grosso, apesar desse efeito não ter sido significativo nos animais do presente experimento.

Os resultados aqui encontrados estão de acordo com a literatura. Oetting et al. (2006) observaram que os leitões do tratamento com antimicrobiano apresentaram menor peso relativo do trato gastrintestinal total e do intestino delgado ( $P < 0,05$ ) que os animais do tratamento controle ou com diferentes níveis de extratos vegetais (constituído de óleo essencial de cravo, tomilho e orégano, acrescido dos princípios ativos eugenol e carvacrol), tendo sido observado um efeito linear significativo para os níveis crescentes de extrato na dieta, isto é, à medida que se aumentou o nível de inclusão dos extratos vegetais na dieta dos leitões, observou-se também um aumento no peso relativo do intestino delgado vazio de animais que receberam o tratamento com o maior nível de inclusão dos extratos vegetais. Utiyama et al. (2006) observaram uma redução numérica não significativa ( $P > 0,05$ ) no peso relativo dos intestinos delgado e grosso vazios dos animais que receberam o tratamento antimicrobiano em comparação àqueles que receberam o tratamento com extratos vegetais (mistura de alho, cravo, canela, pimenta, tomilho e os

princípios ativos cinemaldeído e eugenol). Essa redução, no peso do intestino delgado, encontrada tanto no presente experimento quanto nos experimentos dos autores supracitados pode ser devida a uma menor fermentação microbiana, com conseqüente redução na produção de ácidos graxos voláteis e redução na energia utilizada pelas células epiteliais, com conseqüente redução na mitose dessas células e redução no espessamento do epitélio intestinal. Costa et al. (2007) avaliando o efeito de diferentes extratos vegetais sobre a morfometria dos órgãos digestivos de leitões na fase de creche, encontraram maior peso relativo dos rins dos animais que receberam tratamento antimicrobiano quando comparado à média daqueles que receberam os tratamentos com extrato de cravo, extrato de orégano e extrato de cravo + extrato de orégano. Porém, numericamente, os pesos relativos do fígado e do intestino delgado foram menores no tratamento com antibiótico em comparação aos pesos observados nos tratamentos com os diferentes extratos vegetais e suas combinações. Porém, Lee et al. (2003), observaram redução de peso do intestino de frangos alimentados com ração suplementada com óleos essenciais.

O peso do fígado é outro dado que deve ser considerado. Os animais que receberam o tratamento TH3 (0,06% óleos essenciais) apresentaram peso do fígado maior que aqueles que receberam os tratamentos controle e o tratamento com antibiótico. Sabe-se que o fígado é o órgão principal do metabolismo, principalmente em se tratando da glicose. Embora não seja possível esclarecer o motivo desse aumento, vale ressaltar que, em outro experimento, frangos aos 21 dias de idade recebendo 100 ppm de timol na dieta também apresentaram aumento ( $P < 0,05$ ) no peso do fígado em relação ao tratamento controle (Lee et al., 2003).

Em virtude do reduzido número de trabalhos com suínos, avaliando os efeitos dos óleos essenciais sobre o peso dos órgãos digestivos, não é possível esclarecer e comprovar o efeito destes sobre essa variável.

#### 4.1.3 Histologia do epitélio intestinal

A tabela 7 apresenta as médias de altura das vilosidades (AV,  $\mu\text{m}$ ), de profundidade das criptas (PC,  $\mu\text{m}$ ) e da relação altura de vilosidade/profundidade de cripta (AV/PC) do duodeno, jejuno e íleo, em função dos tratamentos.

Tabela 7. Médias da altura das vilosidades (AV), da profundidade das criptas (PC) e da relação altura de vilosidade/profundidade de cripta (AV/PC) no duodeno, jejuno e íleo dos leitões ao final de 42 dias de experimentação

	Tratamentos <sup>1,2</sup>					CV <sup>3</sup> (%)
	C	A	TH1	TH2	TH3	
<b>Duodeno</b>						
AV ( $\mu\text{m}$ )	304,11 <sup>c</sup>	414,61 <sup>a</sup>	349,52 <sup>b</sup>	428,75 <sup>a</sup>	424,89 <sup>a</sup>	5,664
PC ( $\mu\text{m}$ )	175,55 <sup>a</sup>	122,21 <sup>c</sup>	149,12 <sup>b</sup>	152,61 <sup>b</sup>	114,98 <sup>c</sup>	4,801
AV/PC	1,73 <sup>e</sup>	3,40 <sup>b</sup>	2,34 <sup>d</sup>	2,82 <sup>c</sup>	3,70 <sup>a</sup>	6,750
<b>Jejuno</b>						
AV ( $\mu\text{m}$ )	316,77 <sup>d</sup>	401,95 <sup>b</sup>	337,73 <sup>c</sup>	419,88 <sup>a</sup>	406,58 <sup>b</sup>	1,886
PC ( $\mu\text{m}$ )	182,10	165,96	179,75	169,17	149,41	9,994
AV/PC	1,74 <sup>b</sup>	2,47 <sup>a</sup>	1,88 <sup>b</sup>	2,48 <sup>a</sup>	2,78 <sup>a</sup>	12,071
<b>Íleo</b>						
AV ( $\mu\text{m}$ )	251,77 <sup>c</sup>	321,56 <sup>b</sup>	326,51 <sup>b</sup>	378,99 <sup>a</sup>	378,43 <sup>a</sup>	8,293
PC ( $\mu\text{m}$ )	200,64 <sup>a</sup>	209,82 <sup>ab</sup>	185,46 <sup>bc</sup>	173,26 <sup>cd</sup>	161,98 <sup>d</sup>	6,770
AV/PC	1,26 <sup>c</sup>	1,53 <sup>b</sup>	1,76 <sup>b</sup>	2,19 <sup>a</sup>	2,35 <sup>a</sup>	4,536

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha, dentro de cada variável, diferem entre si pelo Teste SNK ( $P < 0,05$ ).

<sup>2</sup> C=controle; A=antibiótico; TH1= tecnaroma herbal 0,02%; TH2= tecnaroma herbal 0,04%; e TH3=tecnaroma herbal 0,06%

<sup>3</sup> Coeficiente de variação

Houve diferenças entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ) para todas as variáveis, com exceção da PC no jejuno.

Com relação à histologia do duodeno, as maiores alturas de vilosidades foram observadas nos animais que receberam as rações contendo os dois maiores níveis de óleos essenciais (TH2 e TH3), não diferindo das observadas nos animais alimentados com ração contendo o antibiótico. As menores profundidades de cripta foram observadas nos animais que receberam os tratamentos com antibiótico (A) e com o maior nível de inclusão dos óleos essenciais (TH3). Para a relação AV/PC, o maior valor foi observado nos animais que receberam o tratamento TH3.

Para a histologia do jejuno, as maiores alturas de vilosidades foram observadas nos animais que receberam a ração contendo o nível intermediário dos óleos essenciais (TH2). Os valores de profundidade de criptas não apresentaram ( $P > 0,05$ ) diferenças entre si, de acordo com os tratamentos. Para a relação AV/PC, as maiores relações foram observadas nos animais que receberam os tratamentos com antibiótico (A) e com os tratamentos com os dois maiores níveis dos óleos essenciais (TH2 e TH3).

No que diz respeito à histologia do íleo, os animais que receberam os tratamentos com os dois maiores níveis de óleos essenciais (TH2 e TH3) apresentaram ( $P < 0,05$ ) as maiores leituras para altura de vilosidade em comparação aos demais tratamentos. Para a variável profundidade de cripta, estas se apresentaram menores ( $P < 0,05$ ) nos animais que receberam os tratamentos TH2 e TH3 em comparação aos outros três tratamentos. Para a relação AV/PC, as maiores relações ( $P < 0,05$ ) foram observadas nos animais que receberam os tratamentos TH2 e TH3 em comparação aos demais.

Logo após o desmame, a altura das vilosidades diminuiu, resultando em uma menor área de absorção no intestino delgado (Hampson, 1986a) e em menor absorção de fluidos eletrólitos (Nabuurs, 1995). Assim, pode-se inferir que a utilização tanto de antibiótico quanto de óleos essenciais favoreceu um crescimento mais acelerado das vilosidades quando comparado aos outros tratamentos. Quanto maior o tamanho das vilosidades, maior é a capacidade de absorção de nutrientes, já que uma maior AV pode ser consequência de uma maior taxa de renovação nas criptas, provocada por estímulos provenientes da ação dos princípios ativos dos vegetais e seus óleos essenciais.

A maior PC foi observada, tanto no duodeno quanto no íleo, no tratamento controle (C) e as menores nos tratamentos com óleos essenciais, seguidos do tratamento com antibiótico.

A profundidade de cripta indica a intensidade da descamação do epitélio intestinal. Quanto maior for essa profundidade, maior terá sido a descamação e, possivelmente, menor é a capacidade absorptiva das células da borda de escova, uma vez que neste local são produzidas carboidrases de extrema importância, principalmente para leitões recém-desmamados.

Para a relação altura de vilosidade/profundidade de cripta, as maiores relações foram observadas no tratamento TH5, nos três segmentos do intestino.

A relação desejável entre vilosidades e criptas intestinais ocorre quando as vilosidades se apresentam altas e as criptas rasas, pois quanto maior a relação altura de vilosidade:profundidade de cripta, melhor será a absorção de nutrientes e menores serão as perdas energéticas com a renovação celular (Nabuurs, 1995).

Uma redução na altura das vilosidades é um indicativo de maior descamação do epitélio intestinal. O aumento da descamação leva a um aumento na proliferação celular da cripta (Tucci, 2003). Criptas mais profundas são indicativo de maiores gastos energéticos com renovação celular, para garantir a reposição das perdas de células da região apical dos vilos (Pluske et al., 1997). As vilosidades desgastadas e as criptas aprofundadas apresentam menor quantidade de células absorptivas em comparação às secretoras, ocasionando uma digestão incompleta de carboidratos e proteínas, bem como redução na absorção de líquidos, sódio, potássio e cloreto, o que altera a osmolaridade do conteúdo intestinal, podendo levar o animal a uma diarreia osmótica. (Nabuurs et al., 1993).

Oetting et al. (2006) realizando um experimento semelhante encontraram diferenças entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ) nas variáveis altura de vilosidade no íleo e relação AV/PC do íleo. A maior altura de vilosidade foi observada no tratamento antimicrobiano em relação aos tratamentos com três níveis crescentes de extratos vegetais (constituído de óleo essencial de cravo, tomilho e orégano, acrescido dos princípios ativos eugenol e carvacrol). Para a relação AV/PC do íleo, os tratamentos com extratos vegetais diferiram ( $P < 0,05$ ) tanto do tratamento com antimicrobiano quanto do tratamento controle.

Da mesma forma, Utiyama et al. (2006) trabalhando com quatro tipos diferentes de promotores de crescimento, incluindo extratos vegetais (mistura de alho, cravo, canela, pimenta, tomilho e os princípios ativos cinemaldeído e eugenol) e antimicrobianos, observaram que a variável profundidade de cripta do íleo foi influenciada ( $P < 0,10$ ) pelos tratamentos. Os animais do tratamento antimicrobiano apresentaram criptas com menor profundidade do que os dos demais tratamentos.

Contrariamente, o tratamento com extrato vegetal proporcionou criptas com maior profundidade no íleo.

Poucos são os dados encontrados na literatura a respeito do efeito de óleos essenciais e extratos vegetais sobre a histologia intestinal de leitões. Presume-se que estes aditivos estimulem a atividade de enzimas (sacarase e maltase), a secreção exógena pancreática ( $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -lipase) e a secreção de sais biliares (Platel & Srinivasan, 1996), uma vez que possuem como princípio ativo comum a capsaicina, um agente pungente que aumenta a secreção de saliva e suco gástrico.

Os promotores de crescimento em geral podem alterar a histologia do epitélio intestinal, como aumento da altura das vilosidades e redução da profundidade das criptas (Miltemberg, 2000).

#### **4.1.4 Microbiologia intestinal – Contagem total de bactérias**

Os resultados referentes à contagem total das bactérias na amostra do intestino delgado de leitões aos 63 dias de idade, de acordo com os tratamentos, encontram-se na tabela 8.

Na caracterização do gênero gram não foram identificadas bactérias gram-negativas. Silva (2000) salienta que as substâncias produzidas por bactérias gram-positivas, incluindo peptídios antibióticos, bacteriocinas e substâncias semelhantes a antibióticos, podem eliminar as bactérias gram-negativas.

Tabela 8. Contagem total de bactérias na amostra do intestino delgado de leitões aos 63 dias de idade, de acordo com os tratamentos.

Tratamento					
Total (UFC/g) <sup>1</sup> no intestino delgado	Controle	Antibiótico	TH1	TH2	TH3
Gram-positivo	6,40 x 10 <sup>6</sup>	4,75 x 10 <sup>5</sup>	8,32 x 10 <sup>6</sup>	2,60 x 10 <sup>6</sup>	1,42 x 10 <sup>6</sup>

<sup>1</sup> Log. Na base 10 da contagem, por grama do conteúdo da digesta (UFC/g)

Observando-se os resultados, verifica-se que o tratamento com antibiótico demonstrou ser o mais eficiente na redução do número de colônias bacterianas, seguido do tratamento com o maior nível de inclusão dos óleos essenciais. A flora bacteriana predominante pertence ao grupo das fermentadoras de lactose, representadas pela *Escherichia coli*.

Estes resultados sugerem que os animais deste experimento foram submetidos a um desafio antigênico que possibilitou que o efeito antimicrobiano do antibiótico utilizado se evidenciasse. Quando há desafio, há melhora no desempenho dos animais alimentados com promotores de crescimento antimicrobianos. Este efeito está relacionado à ação dos antimicrobianos sobre a microbiota intestinal (Menten, 1995). No entanto, mesmo com essa redução da microbiota intestinal, proporcionada pelo tratamento com antibiótico, os animais deste tratamento não apresentaram os melhores resultados para as características de desempenho avaliadas. Isso sugere que a redução pode ter ocorrido mais sobre os microrganismos benéficos do que sobre os patogênicos. Isso quer dizer que pode ter ocorrido mudanças na proporção de várias espécies (Menten, 2001), predominando as patogênicas.

Com relação ao tratamento com o maior nível de inclusão dos óleos essenciais (TH3), a redução no número de bactérias na amostra do conteúdo intestinal dos animais que receberam tal tratamento, em comparação aos animais que receberam o tratamento controle pode ter ocorrido devido à presença de compostos fenólicos naturais em maior concentração, como carvacrol e o thymol, fundamentais no controle da ação antimicrobiana, que agem sobre a membrana celular bacteriana, impedindo a divisão mitótica, causando desidratação nas células e, com isso, impedindo a sobrevivência destas bactérias patogênicas.

## 4.2 Experimento II – Ensaio de Desempenho II

### 4.2.1 Desempenho dos animais

As médias das variáveis consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar nas fases de 1 a 21 e 22 a 42 dias de experimento encontram-se nas tabelas 9, 10 e 11.

Tabela 9. Consumo de ração médio diário individual (CRMDI, kg/dia), Ganho de peso médio diário individual (GPMDI, kg/dia) e conversão alimentar (CA) de leitões de 1-21 dias de experimentação.

Tratamentos <sup>2</sup>	Variáveis <sup>1</sup>		
	CRMDI (kg/dia)	GPMDI (kg/dia)	CA
Tecnaroma Herbal	0,426 <sup>b</sup>	0,303 <sup>ab</sup>	1,41 <sup>b</sup>
Antibiótico	0,551 <sup>a</sup>	0,325 <sup>a</sup>	1,71 <sup>a</sup>
Pró-biótico	0,426 <sup>b</sup>	0,258 <sup>b</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
Ácido orgânico	0,433 <sup>b</sup>	0,276 <sup>b</sup>	1,57 <sup>ab</sup>
Média	0,459	0,394	1,59
Coeficiente de Variação (CV) (%)	7,765	9,793	5,491

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada variável, diferem entre si pelo Teste SNK (P<0,05).

Tabela 10. Consumo de ração médio diário individual (CRMDI, kg/dia), Ganho de peso médio diário individual (GPMDI, kg/dia) e conversão alimentar (CA) de leitões de 22-42 dias de experimentação.

Tratamentos	Variáveis <sup>1</sup>		
	CRMDI (kg/dia)	GPMDI (kg/dia)	CA
Tecnaroma Herbal	0,805 <sup>a</sup>	0,471 <sup>b</sup>	1,71 <sup>a</sup>
Antibiótico	0,757 <sup>b</sup>	0,519 <sup>a</sup>	1,44 <sup>b</sup>
Pró-biótico	0,741 <sup>b</sup>	0,438 <sup>bc</sup>	1,69 <sup>a</sup>
Ácido orgânico	0,729 <sup>b</sup>	0,410 <sup>c</sup>	1,78 <sup>a</sup>
Média	0,758	0,461	1,66
Coeficiente de Variação (CV) (%)	4,426	5,474	7,685

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada variável, diferem entre si pelo Teste SNK (P<0,05).

Tabela 11. Consumo de ração médio diário individual (CRMDI, kg/dia), Ganho de peso médio diário individual (GPMDI, kg/dia) e conversão alimentar (CA) de leitões de 1-42 dias de experimentação.

Tratamentos	Variáveis <sup>1</sup>		
	CRMDI (kg/dia)	GPMDI (kg/dia)	CA
Tecnaroma Herbal	0,615 <sup>b</sup>	0,387 <sup>b</sup>	1,56
Antibiótico	0,654 <sup>a</sup>	0,425 <sup>a</sup>	1,58
Pró-biótico	0,584 <sup>b</sup>	0,348 <sup>c</sup>	1,68
Ácido orgânico	0,581 <sup>b</sup>	0,343 <sup>c</sup>	1,68
Média	0,608	0,376	1,62
Coeficiente de Variação (CV) (%)	4,621	5,678	7,333

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada variável, diferem entre si pelo Teste SNK (P<0,05).

No período de 1 a 21 dias de experimentação, pode-se observar que os animais que receberam o tratamento com antibiótico apresentaram consumo de ração diário superior (P<0,05) aos animais que receberam os demais tratamentos.

Para o ganho de peso diário, observou-se que os animais dos tratamentos A e TH apresentaram maior valor ( $P < 0,05$ ) para esta variável, em comparação aos animais dos tratamentos pró-biótico e ácidos orgânicos. Para a conversão alimentar, o tratamento com o tecnaroma herbal mostrou-se superior ( $P < 0,05$ ) em comparação aos outros três tratamentos, sendo a pior CA atribuída ao tratamento com antibiótico. Uma maneira de tentar explicar esse resultado para a CA é o fato de os animais que receberam o mesmo tratamento TH no experimento I, terem apresentado vilosidades menos desgastadas e criptas menos aprofundadas, quando comparadas às mesmas variáveis do tratamento antibiótico. Isso sugere que, vilosidades maiores e criptas menores, proporcionam um maior aproveitamento dos nutrientes, uma vez que as principais enzimas digestivas para suínos localizam-se na borda de escova do epitélio intestinal, no ápice das vilosidades.

Durante o período de 22 a 42 dias, os animais do tratamento com óleos essenciais foram os que apresentaram melhor ( $P < 0,05$ ) CRMDI e, para o GPMDI, o maior ( $P < 0,05$ ) valor obtido foi para o tratamento com antibiótico. O melhor resultado ( $P < 0,05$ ) para CA foi observado no tratamento com os óleos essenciais, sendo que o tratamento com antibiótico foi o que apresentou a pior CA. Os tratamentos com pró-biótico e ácidos orgânicos, de modo geral, apresentaram os mesmos valores ( $P < 0,05$ ) para as variáveis de desempenho. A diferença de desempenho dos animais do tratamento com antibiótico demonstra que os animais foram submetido **S** a um elevado desafio antigênico, uma vez que o efeito benéfico dos antimicrobianos é mais evidenciado quanto maior for o desafio ambiental (Menten, 2002).

Com relação ao período de 1 a 42 dias de experimentação, os animais que receberam o tratamento com antibiótico apresentaram melhores resultados ( $P < 0,05$ ) de CRMDI e GPMDI que os animais que receberam os tratamentos com óleos essenciais, pró-biótico e ácidos orgânicos. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos avaliados para a variável CA.

Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Utiyama et al. (2006), que utilizou extratos vegetais, pró-biótico, pré-biótico e antibiótico nas rações de leitões desmamados. De maneira geral, consumo de ração diário e o ganho de peso diário mostraram-se superiores no tratamento com antimicrobiano, em comparação aos demais tratamentos.

O melhor desempenho dos animais que receberam o tratamento com o antibiótico pode ser atribuído ao efeito deste promotor de crescimento sobre a microbiota intestinal, uma vez que seu principal modo de ação é como agentes bactericidas ou bacteriostáticos, que provoca efeitos interativos com a fisiologia do animal, como a economia de nutrientes, controle de doenças subclínicas e efeito metabólico (Menten, 1995).

A melhor conversão alimentar (1-21 dias) observada no tratamento com óleos essenciais, apesar de o CRMDI e o GPMDI não terem sido superiores neste tratamento, pode ser explicada pelo efeito antimicrobiano considerado o principal modo de ação. O efeito antimicrobiano dos óleos essenciais está relacionado, principalmente, com a alteração da permeabilidade e integridade da parede celular bacteriana (Lambert et al., 2001). Dorman & Deans (2000), em um estudo *in vitro*, observaram que os óleos essenciais de cravo, tomilho e orégano apresentaram efeito antimicrobiano pronunciado sobre determinados patógenos.

Para o tratamento pró-biótico, os resultados encontrados neste experimentam discordam de alguns trabalhos encontrados. Em uma revisão feita por Stewart & Chesson (1993), onde reuniram diversos trabalhos utilizando tipos e concentrações diferentes de pró-bióticos, concluíram que, em média, há um aumento de 4,8% no ganho de peso diário de leitões na fase inicial. Roth & Kirchgessener (1998), utilizando pró-biótico à base de *Bacillus* também conseguiram resultados positivos no GDP de leitões recém-desmamados.

Para o tratamento com os ácidos orgânicos, também foram encontrados trabalhos na literatura que concordam e que discordam dos resultados deste experimento. Lyra (2007), ao utilizar diferentes níveis de inclusão de ácidos orgânicos nas dietas de leitões desmamados, observou que os animais não apresentaram melhoria no desempenho em nenhum dos três períodos avaliados. O mesmo também foi observado por Araújo et al. (2001), em uma pesquisa semelhante. Já Chiquieri (2007) observou uma relativa melhora de ganho de peso nos animais alimentados com ração 0,4% de ácidos orgânicos (18,18%) em relação aos animais do grupo controle (sem pró-nutriente). Também Maribo et al. (2000) verificaram melhores taxas de consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar em leitões desmamados, quando utilizaram ácido orgânico na alimentação.

De acordo com Sanches et al. (2006), a eficácia dos produtos é diretamente dependente da quantidade e das características dos pró-nutrientes, ficando muito difícil estabelecer um paralelo entre estudos e comparar resultados.

Além disso, no caso dos óleos essenciais, seus modos de ação em experimentos *in vivo* não foram totalmente esclarecidos e comprovados. Alguns trabalhos relatam resposta positiva do uso de extratos vegetais e óleos essenciais, enquanto que outros não. Oetting et al. (2006) também encontraram resposta significativa ao uso de antibiótico em leitões, quando comparada ao resultado de desempenho de leitões que receberam dietas com ou sem extrato vegetal. Já Jeaurond et al. (2002), trabalhando com leitões, observaram que a inclusão de 0,75% de uma combinação de extratos vegetais na dieta promoveu maior ganho de peso em relação aos animais do tratamento controle (26 vs -5 g/dia). Da mesma forma, Kwon et al. (2004), utilizando extrato vegetal na alimentação de leitões, observaram melhoras significativas na conversão alimentar, ao aumentar o nível de inclusão do extrato vegetal de 0,02% para 0,06%. É possível explicar essa melhora com o fato de que determinados extratos vegetais influenciam mais positivamente o sistema enzimático de leitões, promovendo uma maior atividade das enzimas digestivas, aproveitando melhor os nutrientes da dieta.

Assim, mais pesquisas são necessárias para esclarecer e comprovar os possíveis modos de ação dos diversos óleos essenciais e extratos vegetais, bem como a melhor combinação e concentração dessas substâncias, para torná-los uma alternativa viável ao uso de antimicrobianos como promotores de crescimento em suínos.

### **4.3 Experimento III – Ensaio de Digestibilidade**

A tabela 12 mostra as médias dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), da proteína bruta (CDPB) e da energia bruta (CDEB) em função dos tratamentos.

Tabela 12. Médias dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), da proteína bruta (CDPB) e da energia bruta (CDEB) em função dos tratamentos.

Tratamentos	Coeficientes de digestibilidade aparente <sup>1</sup> (%)		
	Matéria Seca	Proteína bruta	Energia bruta
Controle	82,03 <sup>bc</sup>	80,87 <sup>a</sup>	65,86 <sup>b</sup>
Antibiótico	85,22 <sup>ab</sup>	83,89 <sup>a</sup>	65,02 <sup>b</sup>
Tecnaroma Herbal 0,02% (TH1)	80,49 <sup>c</sup>	74,62 <sup>b</sup>	61,28 <sup>c</sup>
Tecnaroma Herbal 0,04% (TH2)	84,78 <sup>ab</sup>	80,70 <sup>a</sup>	70,84 <sup>a</sup>
Tecnaroma Herbal 0,06% (TH3)	86,62 <sup>a</sup>	82,73 <sup>a</sup>	66,52 <sup>b</sup>
Média	83,83	80,56	65,91
Coeficiente de variação (%)	2,546	3,649	2,969

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, dentro de cada variável, diferem entre si pelo Teste SNK ( $P < 0,05$ ).

A inclusão de níveis crescentes de óleos essenciais às rações promoveu o aumento ( $P < 0,05$ ) da digestibilidade da matéria seca em relação ao tratamento controle, sendo este efeito mais expressivo no tratamento com maior nível de inclusão dos óleos essenciais. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Oetting et al. (2006) que, trabalhando com leitões desmamados, observaram um aumento no coeficiente de digestibilidade da matéria seca, em relação ao tratamento controle, quando da inclusão de níveis crescentes de extratos vegetais (constituído de óleo essencial de cravo, tomilho e orégano, acrescido dos princípios ativos eugenol e carvacrol). Hernández et al. (2004) também encontraram resposta semelhante às obtidas no presente experimento. Em um estudo com frangos estes autores observaram um aumento no CDMS, em relação ao tratamento controle, quando se suplementou a dieta com dois tipos de extratos vegetais: um à base de orégano, canela e pimenta e o outro à base de sálvia, tomilho e alecrim. Entretanto, Utiyama et al. (2006), em experimento com leitões, utilizando um único tipo de extrato vegetal (mistura de alho, cravo, canela, pimenta, tomilho e os princípios ativos cinemaldeído e eugenol), observaram que o tratamento com antibiótico se sobressaiu ( $P < 0,05$ ) em relação aos demais tratamentos, sendo que o tratamento com extrato vegetal apenas foi superior ( $P < 0,05$ ) ao tratamento controle para o CDMS.

Com relação ao CDPB, os tratamentos não diferiram ( $P>0,05$ ) entre si, com exceção do tratamento TH1, que apresentou CDPB inferior aos demais tratamentos.

Para o CDEB, foi observado que o tratamento TH2 apresentou o maior coeficiente de digestibilidade em relação aos outros quatro tratamentos.

Para se explicar a melhora da digestibilidade da energia, proporcionada pelo tratamento TH2, pode-se citar que este tratamento apresentou as maiores alturas de vilosidade e menores profundidades de cripta e, conseqüentemente, uma maior relação AV/PC. Criptas menos profundas são indicativo de menores gastos energéticos com renovação celular, para garantir a reposição das perdas de células da região apical dos vilos (Pluske et al., 1997). Assim, há uma economia de energia para ser utilizada nos processos digestivos e de metabolização dos nutrientes.

Outra explicação é o possível efeito antimicrobiano dos óleos essenciais. Sabe-se que os microrganismos do intestino delgado e estômago competem pelos mesmos nutrientes com os leitões. Em suínos, até 6% da energia bruta da dieta pode ser perdida devido à fermentação microbiana (Jensen, 1998). O efeito antimicrobiano proporciona uma considerável redução na população microbiana, diminuindo a fermentação dos carboidratos, aumentando a disponibilidade para absorção. Essa modificação da população microbiana também pode ser utilizada para explicar também a melhora nos coeficientes de digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta, uma vez que, a redução da população microbiana além de disponibilizar mais carboidratos e aminoácidos para absorção, também reduz a adesão de bactérias e a produção de toxinas pelas mesmas, melhorando a integridade do epitélio intestinal (Butolo, 1999; Baynes & Varley, 2001).

Outra forma de se explicar a melhora na digestibilidade dos nutrientes, proporcionada, no geral, pelos tratamentos com os óleos essenciais, é o fato que os extratos vegetais e óleos essenciais podem aumentar a secreção de saliva, suco gástrico, suco pancreático, sais biliares e enzimas do intestino delgado em ratos (Wang & Bourne, 1998). Esses dois compostos, quando presentes em uma dieta, proporcionam um aumento na produção de pepsina e ácido gástrico pelo organismo, contribuindo para uma redução do pH estomacal e do intestino delgado, estimulando a secreção pancreática (Mellor, 2000).

## 5 Conclusões

Os resultados encontrados nesta pesquisa sugerem que o produto Tecnaroma Herbal ZTA Mix pode, com grandes chances de sucesso, ser utilizado como aditivo alternativo aos agentes antimicrobianos como promotores do crescimento de leitões, uma vez que os tratamentos contendo os níveis de inclusão de 0,04% e 0,06% melhoraram o consumo de ração diário, o ganho de peso diário e a conversão alimentar dos animais em todos os períodos avaliados, bem como proporcionaram melhora na digestibilidade dos nutrientes.

Em virtude das variações nas respostas encontradas nesta pesquisa e na literatura, são necessários mais estudos para comprovar a eficácia dos óleos essenciais e determinar a melhor relação entre seus diferentes tipos e suas concentrações na dieta para maximizar o desempenho dos animais.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, C. (1999) **Flavours and sweeteners**. In: Nutricines. Food components in health and nutrition. Nottingham University, UK. P. 101-102.
- ADAMS, R.P. (1995) **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publ. Corp. 469p.
- ALEU, J.; HANSON, J. R.; GÁLAN, R. H.; COLLADO, I. G. (2001) **Biotransformation of the fungistatic sesquiterpenoids patchoulol, ginsenol, cedrol and globulol by *Botrytis cinerea***. Journal of Molecular Catalysis. B, Enzimatic, Amsterdam, v. 11, p. 329-334.
- ANDERSON, D.B.; McCracken, V.J.; AMINOV, R.I. et al. (1999) **Gut microbiology and growth-promoting antibiotics in swine**. Pigs News Information, v.20, p.115-122.
- ANDRIGUETO, J. M. (Ed.) **Nutrição animal**. 4. ed. São Paulo: Nobel. v.1, 1986.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (1980) **Official methods of analysis**. 13 ed. Washington, 1980. 1025p.
- ARAÚJO, L.F. e PRATA, M.F. (2001) **Ácido benzóico na alimentação de suínos**. Revista Pork World, Ano 5, n.28, p.62-65.
- BOLAND, J.; HOUSE, A. P. N. (1991) **Lyptus leaf oils: use, chemistry, distillation and marketing**. Melbourne: INKATA/ACIAR/CSIRO.247 p.
- BOTSOGLOU, N.A.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E. et al. (2002b) **Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues**. British Poultry Science, v.43, p.223-230.
- BRAGA, H. C. (1971) **Os óleos essenciais no Brasil – estudo econômico**. Rio de Janeiro, RJ, Departamento de Pesquisa Agropecuária. 156p.

- BRANCO, P. A. C. ; LIMA, J. A. F. ; FIALHO, E.T. ; FREITAS, R. T. F. ; LOGATO, P. V. R. ; SANTOS, Z. A. S. ; CARELLOS, D. C. (2006) **Utilização da Farinha Pré-Gelatinizada de Milho e Soja Micronizada em Dietas de Leitoes dos 21 aos 56 dias de Idade.** Boletim de Indústria Animal, v. 63, p. 1-10.
- BRUGALLI, I. (2003) **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, Campinas: CBNA. p.167-182.
- BRUL, S. & COOTE, P. (1999) **Preservatives agents in foos. Mode of action and microbial resistance mechanisms.** International Journal of Food Microbiology, v. 50, p. 1-17.
- BURRIN, D.G.; STOLL, B.; van GOUDOEVER, J.B. et al. (2001) **Nutrition requirements for intestinal growth and metabolism in the developing pig.** In: LINDBERG, J.E.; OGLE, B. (Eds.). Digestive physiology of pigs. Wallingford: CABI Publishing. p.75-78.
- BUTOLO, J.E. (1999) **Uso de aditivos na alimentação de aves: frangos de corte.** In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Campinas, SP. Anais... Campinas: CBNA. p.85-94.
- CAMPADAL, C.; VARGAS, E.; FONSECA, M. (1995) **Evaluación de los ácidos orgánicos en la alimentación de lechones. I. Uso del ácido cítrico.** Agronomía Costarricense, v.19, p.47-51.
- CHAIBI, A.; ABABOUC, L. H.; BELASRI, K.; BOUCETTA, S.; BUSTA, F. F. (1997) **Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62 A spores by essential oils.** Food Microbiology, London, v. 14, p. 161-174.
- CHIQUIERI, J. (2007) **Diferentes pró-nutrientes na alimentação de leitões.** Tese (Doutorado) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 54p.
- COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. (1998) **Microingredientes: Microingredientes na Alimentação Animal.** São Paulo: Sindirações, Anfal. 45p.

- CORASSA, A.; LOPES, D.C.; OSTERMANN, J.D. et al. (2006) **Níveis de ácido fólico em dietas contendo ácido fórmico para leitões de 21 a 49 dias de idade**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.2, p.462-470.
- CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. (1994) **Cultivo de plantas medicinais e aromáticas**. 2ª ed. Jaboticabal, SP: FUNEP. 162p.
- COSTA, L.B.; TSE, M.L.P.; MIYADA, V.S. (2007) **Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, n.3, p.589-595.
- CROMWELL, G.L. (1991) **Antibiotics**. In: Miller, B.R.; Ulley, D.E.; Lewis, A.J. (eds) Swine nutrition. Stoneham, England, Butterworth-Heinemann.
- CUMMINGS, J.H.; MACFARLANE, G.T. (1991) **The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon**. Journal of Applied Bacteriology, v.70, p.443-459.
- DEMIR, E.; SARICA, S.; ÖZCAN, M.A. et al. (2003) **The use of natural feed additives as alternative for an antibiotic growth promotres in broiler diets**. British Poultry Science, v.44, p.S44-S45.
- DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. (2000) **Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil**. Journal of Applied Microbiology, v.83, p. 308-316.
- FARAG, R.S.; DAW, Z.Y.; HEWEDI, F.M. et al. (1989) **Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils**. Journal of Food Protection, v.52, n.9, p. 665-667.
- FULLER, R. (1989) **Probiotics in man and animals**. Journal of Applied Bacteriology. V.66, p.356-378.
- GAUTHIER, R. (2005) **Modo de ação dos acidificantes e interesse que geram na fase de crescimento e terminação**. Revista Pork World. Ano 5, n.28, p.52-58.
- GUERRA, M. C. (1998) **Uso de Componentes Aromáticos no Preparo de Rações**. Associação de Professores de Farmacologia e Toxicologia. Departamento de Farmacologia. Universidade de Bolonha. 47 p.

- HAMPSON, D.J. (1986a) **Alterations in piglets small intestinal structure at weaning.** Reserch in Veterinary Science, v.40, p.32-40.
- HEDEMANN, M.S.; HOJSGAARD, S.; JENSEN, B.B. (2003) **Small intestine morphology and activity of intestinal peptidases in piglets around weaning.** Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. V.87, p.32-41.
- HERNANDEZ, F.; MADRID, J.; GARCIA, V. et al. (2004) **Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size.** Poultry Science, v.83, p.169-174.
- HUYGHEBAERT, G. (2003) **Replacement of antibiotics in poultry.** In: Eastern Nutrition Conference, Quebec City. Anais Quebec City: UON. P.1-23
- JEAUROUND, E.; SCHUMANN, B.; CLUNIES, M. et al. (2002) **Suplementation of diets with herbal extracts enhances growth performance in newly-weaned piglets.** Journal of Animal Science, v.80, p.394 (suppl. 1).
- JENSEN, B.B. (1998) **The impact of feed additives on the microbial ecology of the gut in young pigs.** Journal of Animal and Feed Sciences. V.7, p.45-64.
- JENSEN, J.F.; JENSEN, M.M. **The effect of using growth promoting *Bacillus* strains in poultry.** In: WORLD'S POULTRY CONGRESS, 13., Amsterdam: WPSA, v.3, p.398-402.
- JONES, G. (2002) **Phytobiotic solutions.** Pig Progress. V.18, n.8.
- JONES, G.P. (2001) **High-performing livestock and consumer protection are not contradictory.** Feed Magazine. V.12.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; JUNQUEIRA, L.M.M.S. (1993) **Técnicas básicas de citologia e histologia.** São Paulo: Universidade de São Paulo, 123p.
- KALEMBA, D.; KUNICKA, A. (2003) **Antibacterial and antifungal properties of essencial oils.**
- KAMEL, C. (2000) **A novel look at a classic approach of plant extracts.** Feed Mix, v.9, n.6, p. 19-24.

- KELLY, D.; KING, T.P. (2001) **Digestive physiology and development in pigs**. In: VARLEY, M.A.; WISEMAN, J. (Ed.). *The weaned pig: nutrition and management*. Nottingham, UK: CABI Publishing. cap.9, p.179-206.
- KWON, S.; MIN, B.J.; LEE, W.B. et al. (2004) **Effect of dietary natural herb extract (Biomate) supplementation on growth performance, IGF-1 and carcass characteristics in growing-finishing pigs**. *Journal of Animal Science*, v.82, suppl. 1, p.177.
- LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.J.; NYCHAS, G.J.E. (2001) **A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol**. *Journal of Applied Microbiology*, v.91, p.453-462.
- LEE, K.W.; EVERTS, H.; KAPPERT, H.J. et al. (2003a) **Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens**. *British Poultry Science*, v.44, n.3, p.450-457.
- LEE, K.W.; EVERTS, H.; KAPPERT, H.J. et al. (2003b) **Dietary carvacrol lowers body weight but improves feed conversion in female broiler chickens**. *Journal of Applied Poultry Research*, v.12, p.394-399.
- LEEDLE, J. (2000) Probiotics and DFM's – **Mode of action in the gastrointestinal tract**. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, Campinas. Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2000. p.25-40.
- LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; CLARK, A. M.; McCHESNEY, J. D. (1990) **Antimicrobial activity of essential oils of brazilian plants**. *Phytotherapy Research*, Chichester, v. 4, n. 2, p. 82-84.
- LEWIS, M.R.; ROSE, S.P.; MACKENZIE, A.M. et al. (2004) **The effects of dietary herbal extracts for broiler chickens**. *Journal of Animal Science*, v.82, suppl. 1, p.169.
- LIMA, G.J.M.M. (1999) **Uso de aditivos na produção de suínos**. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Universidade Metodista de Piracicaba. p.51-68.

LIN, H.C.; VISEK, W.J. (1991) **Colon mucosal cell damage by ammonia in rats.** Journal of Nutrition, v.121, p.887-893.

LYRA, M.S. (2007) **Utilização de ácidos orgânicos na alimentação de leitões desmamados.** Monografia (Graduação em Zootecnia) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 27p.

MAGALHÃES, M. T. (1998) **Composição química de óleos essenciais.** In: D'ANDREA PINTO, A. J., YALIKU, H.Y., BARROS, C.B. I Simpósio de Óleos Essenciais - Anais, Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa - UFV, p.21-25.

MANCINI, B. (1984) **Influência de tempo de destilação na composição quali e quantitativa de óleos essenciais.** Essência de Hortelã do Brasil. Revista de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, v. 6, p. 1-7, 1984.

MANZANILLA, E.G.; PEREZ, J.F.; MARTIN, M. et al. (1999) **Effect of plant extract and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs.** Journal of Animal Nutrition, v.129, p.613-619.

MARIBO, H.; B.B. JENSEN & S. HEDEMANN. (2000) Different doses of organic acids to piglets. Danish Bacon and Meat Council, n. 469 (In Danish).

MARTINS, P.M. (2000) **Influência da temperatura e velocidade do ar de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF.).** Viçosa: UFV. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, 2000. 77 p.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C., DIAS; J.E. (1994) **Plantas medicinais.** Viçosa, MG: UFV. 220p.

MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; ALENCAR, J.W. SILVA, M.G. (1999) **Medicinal plants of Northeast Brazil containing thymol and carvacrol - *Lippiasidoides* Cham. and *L. gracillis* H.B.K. (Verbenaceae).** Journal of Essential Oil Research, 11: 6, 666-668.

Medicina Alternativa. Óleos Essenciais: Uma Revisão. <<http://www.medicinaalternativa.com.br>> Acessado em Novembro de 2005.

MELLOR, S. (2000) **Alternatives to antibiotic.** Pig Progress, v.16, p.18-21, 2000.

- MENTEN, J.F.M. (2002) **Probióticos, prébióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves**. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., Campinas. Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. p.251-276.
- MENTEN, J.F.M. (2001) **Aditivos alternativos na produção de aves: probióticos e prebióticos**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia. p.141-157.
- MENTEN, J.F.M. (1995) **Eficácia, efeito sinérgico e modo de ação de agentes antimicrobianos como promotores de crescimento de suínos**. Piracicaba. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. USP. 106p.
- MILTEMBERG, G. (2000) **Extratos herbais como substitutos de antimicrobianos na alimentação animal**. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL. Campinas. Anais. Campinas: IAC. p. 87-100.
- MING, L.C., FIGUEIREDO, R.O., MACHADO, S.R., ANDRADE, R.M.C. (1996) Yield of essential oil of and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) Poaceae. **Acta Horticulturae**, n.426, p.555–559.
- MOLLY, K. (2001) **Formulating to solve the intestinal puzzle**. Pig Progress, v.17, p.20-22.
- MORAES, N.; MARQUES, J.L.; SOBESTIANSKY, J.; OLIVEIRA, A.; COELHO, L.S. (1990) **Influência do nível protéico e/ou acidificação da dieta sobre a diarreia pós-desmame causada por Escherichia coli**. Pesqui. Vet. Bras. Rio de Janeiro, v.10, n.3/4, p. 85-88.
- MOTA, E.G. (1996) **Restrições e uso de aditivos (promotores de crescimento) em rações de aves: visão do ministério**. In.: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, Curitiba. Anais... Campinas: FACTA, p.51-57.
- NABUURS, M.J.A. (1995) **Microbiological, structural and functional changes of the small intestine of pigs at weaning**. Pig News Information, v.16, p.93-97.

- NABUURS, M.J.A; ZIJDERVELD, F.G.; DE LEEUW, P.W. (1993) **Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands**. Research in Veterinary Science, v.55, p.78-84.
- NEDER, R.N. (1992) **Microbiologia: manual de laboratório**. São Paulo: Nobel, 1. Ed. 138 p.
- OETTING, L.L.; UTIYAMA, C.E.; GIANI, P.A. et al. (2006) **Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.4, p.1389-1397.
- OETTING, L.L. (2005) **Extratos vegetais como promotores do crescimento de leitões recém-desmamados**. Tese (doutorado). Esalq. Piracicaba. 66 p.
- OYEDEJI, A. O.; EKUNDAYO, O.; OLAWORE, O. N.; ADENIYI, B. A.; KOENIG, W. A. (1999) **Antimicrobial activity of the essential oils of five *Eucalyptus* species growing in Nigeria**. Science Direct-Fitoterapia, [S.l.], v. 70, p. 526-528.
- PARTANEN, K.H. & MROZ, Z. (1999) **Organic acids for performance enhancement in pig diets**. Nutrition Reserch Reviews, 12: 1-30.
- PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J.; WILLIAMS, J.H. (1997) **Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review**. Livestock Production Science, v.51, p.215-236.
- PLUSKE, J. R.; WILLIAMS, I. H.; AHERNE, F. X. (1996) **Maintenance of villos height and crypt depth by providing continuous nutrition after weaning**. Animal Science, v.62, p.131-144.
- PRESCOTT, J.F., BAGGOT, J.D. (1991) **Terapêutica antimicrobiana veterinária**. Zaragoza: Acribia. p.414.
- ROSTAGNO, H.S. (2005) **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos** (Tabelas brasileiras), 1ª impressão, Ed. Imp. Univ. da UFV, Viçosa, MG.
- ROTH, L. (2000) **The battle of the bugs – the direct fed microbial concept**. Pig Progress, v.16, p.12-15.

- ROTH, F.X. & KIRCHGESSNER, M. (1998) **Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects.** Journal of Animal and Feed Sciences, 7. 25–33.
- SAEG – versão 7.1 (1995) **Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas.** Universidade Federal de Viçosa.
- SILVA, F.; CASALI, V.W.D. (2000) **Plantas medicinais e aromáticas: Pós -colheita e óleos essenciais.** Viçosa, MG: UFV.
- SILVA, E.N. (1999) **Probióticos em rações para frangos de corte.** Lavras. 66p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras.
- SONCINI, R.A. (1999) **Restrições do uso de aditivos na alimentação animal: expectativa da agroindústria.** In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, Piracicaba. Anais. Piracicaba: CBNA. p.99-104.
- STEWART, C.S.; CHESSON, A. (1993) **Making sense of probiotics.** Pig Veterinary Journal, v.31, p.11-33.
- STOKES, C.R.; BAILEY, M. HABERSON, K. (2001) **Development and function of the pig gastrointestinal immune system.** In: Lindeber, J.E.; OGLE, B. (Ed). Digestive physiology of pigs. Wallingford CABI Publishing. Cap. 16, p.59-66.
- TAYLOR, R. (1996) **Lemon myrtle the essential oil.** CSIRO's Rural Research 172, Spring, pp 18-19.
- TECNESENZE S.r.l. (1998) **Testes com Tecnaroma Herbal® nas diversas raças de animais.** 29 p.
- TEIXEIRA, A. S. (1998) **Alimentos e alimentação dos animais.** Lavras:UFLA/FAEPE. 402p.
- TURNER, J.L.; DRITZ, P.S.S.; MINTON, J.E. (2001) Review: **Alternatives to conventional antimicrobials in swine diets.** The Professional Animal Scientist, v.17, p.217-226.
- TUCCI, F.M. (2003) **Efeitos da adição de agentes tróficos na dieta de leitões desmamados sobre a renovação celular da mucosa intestinal, enzimas digestivas e desempenho.** Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista. 84 p.

- UTIYAMA, C.E.; OETTING, L.L.; GIANI, P.A. et al. (2006) **Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.6, p.2359-2367.
- UTIYAMA, C.E. (2004) **Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores do crescimento de leitões recém-desmamados**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Tese (Doutorado). 94p.
- VANBELLE, M.; TELLER, E.; FOCANT, M. (1990) **Probiotics in animal nutrition: a review**. Archives of Animal Nutrition, v.40, p.543-567.
- VARLET, N. (1993) Overview of the essential oils economy. Acta Horticulturae. V.333, p.65-67.
- VENSKUTONIS, P.R. (1997) **Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.)**. Food Chemistry, v.59, n.2, p.219–227.
- VITTI, A. M. S. & BRITO, J. O. (1999) **Produção de óleo essencial de eucalipto**. Piracicaba, SP, IPEF - Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, Departamento de Ciências Florestais, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ / USP, IPEF -NOTÍCIAS, setembro/outubro, v. 23, n.146, p.11.
- WANG, R.; LI, D.; BOURNE, S. (1998) **Can 2000 years of herbal medicine history help us solve problems in year 2000?**. In: ALLTECH’S ANNUAL SYMPOSIUM, 14. Nottingham. Proceedings... Nottingham: ALLTECH, 1998. p.168-184.
- XAVIER, A. (1993) **Variabilidade genética de óleo essencial e de crescimento em progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus citriodora***. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV, p.5-30. (Tese M.S.).
- ZUANON, J.A.S. (1995) **Efeito dos promotores de crescimento em frangos de corte**. Viçosa. 70p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- ZUANON, J.A.S., FONSECA, J.B., ROSTAGNO, H.S., ALMEIDA E SILVA, M. (1998) **Efeito de promotores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte**. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v.27, n.5, p.999-1005.