UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

KATIÉLI CAROLINE WELTER

**Extratos de plantas como aditivos naturais na dieta de
cordeiros em terminação**

Pirassununga

2018

KATIÉLI CAROLINE WELTER

**Extratos de plantas como aditivos naturais na dieta de
cordeiros em terminação**

VERSÃO CORRIGIDA

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutora em Ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Ives Cláudio da Silva Bueno
Coorientadora: Sarita Bonagurio Gallo

Pirassununga

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

WK19e Welter, Katiéli Caroline
Extratos de plantas como aditivos naturais na
dieta de cordeiros em terminação / Katiéli Caroline
Welter ; orientador Ives Cláudio da Silva Bueno ;
coorientador Sarita Bonagurio Gallo. --
Pirassununga, 2018.
97 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia
de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. CB420.3 . 2. CB420.3.1 . I. Bueno, Ives
Cláudio da Silva, orient. II. Gallo, Sarita
Bonagurio, coorient. III. Título.

KATIÉLI CAROLINE WELTER

Extratos de plantas como aditivos naturais na dieta de cordeiros em terminação

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutora em Ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Data de aprovação: ____/____/____

Banca examinadora

Prof. Dr. Ives Cláudio da Silva Bueno (FZEA/USP)
Presidente da Banca Examinadora

Dr. Alessandro Pelegrine Minho (EMBRAPA/PECUÁRIA SUDESTE)

Prof. Dr. Angélica Simone Cravo Pereira (FMVZ/USP)

Prof. Dr. Arlindo Saran Netto (FZEA/USP)

Prof. Dr. Ciniro Costa (FMVZ/UNESP)

Dr. Flávio Perna Júnior (FMVZ/USP)

DEDICATÓRIA

Ao meu amor, Cristian, por toda paciência, apoio e amor.

*Aos meu país, Marlice e Nereu, pela educação, incentivo e
amor incondicional.*

*A toda minha família, por entenderem meus inúmeros
momentos de ausência.*

Amo todos vocês!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente devo agradecer a Deus, pelo Dom da Vida, por sempre me dar forças e nunca me deixar só, pela minha saúde e por sempre ter pessoas maravilhosas por perto.

À Nossa Senhora Aparecida, por sempre me guiar e me proteger. Tu és fantástica!

À Universidade de São Paulo e a Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, pela oportunidade de ter cursado o mestrado, e agora o doutorado.

À CAPES pela concessão de alguns meses de bolsa de doutorado, que auxiliaram muito, foram essenciais para que eu pudesse continuar meus objetivos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa Doutorado no país processo FAPESP nº 2016/07276-0 e pela Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE) processo FAPESP nº 2017/11922-7. A FAPESP se resume em uma Fundação de grande incentivo à pesquisa Brasileira!

A todos os professores que me auxiliaram a chegar até aqui, desde a graduação, mestrado, doutorado. A vocês meu muito obrigada! Sempre levo comigo o que aprendi com vocês!

Aos membros da banca, por aceitarem o convite de avaliar meu trabalho! Suas considerações serão essenciais!

Ao meu orientador, prof. Ives, por ter aceitado me orientar, pela paciência e tranquilidade nos momentos difíceis.

À minha coorientadora, prof. Sarita, por todo auxílio, principalmente no experimento à campo, sem você nada disso seria possível!

Ao meu grupo de pesquisa (LFR) que além de serem parceiros no trabalho foram parceiros na vida! Obrigada Gabriela, Flávia, Caroline, Rafaela, Richard, Priscila, Renata, Roberta, Tatiane, Gisele por todo auxílio no meu experimento, coletas e análises. Um obrigada mais especial vai para os momentos de alegria e descontração!

Aos funcionários do setor de ovinocultura, que sempre estavam dispostos a nos auxiliar no que era preciso.

Ao Dr. Hristov da Penn State, pela oportunidade de viver a pesquisa de uma forma diferenciada.

Aos meu pais, pelo incentivo e educação. Vocês me ensinaram a ter força, garra e seguir em frente sempre! Em nome deles, agradeço a todos minha família que sempre estão torcendo por mim, vocês estão no meu coração!

Ao amor da minha vida, Cristian, pela ajuda, paciência e companheirismo em todas as horas! Seu apoio, amor e incentivo são fundamentais pra mim!

À todas as pessoas que de alguma forma contribuíram e torceram para que esse momento de concretizasse, meu eterno e sincero *MUITO OBRIGADA!!!*

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

Albert Einstein

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”.

José de Alencar

“O cavalo se ajeita no freio, e o homem na luta em que passa...um se conhece em rodeio, e o outro na causa que abraça”

Mano Lima

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Desempenho produtivo de cordeiros em terminação alimentados com dietas mitigadoras de metano", protocolado sob o CEUA nº 5804310815, sob a responsabilidade de **Katiéli Caroline Welter** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - FZEA/USP em reunião de 23/09/2015.

We certify that the proposal "Productive performance of lambs in termination fed diets methane mitigation", utilizing 36 Ovinos (36 males), protocol number CEUA 5804310815, under the responsibility of **Katiéli Caroline Welter** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes (or teaching) - it's in accordance with Law 11.794, of October 8 2008, Decree 6899, of July 15, 2009, with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Animal Science and Food Engineering of São Paulo University in the meeting of 09/23/2015.

Vigência da Proposta: de 10/2015 a 12/2015

Área: Zootecnia

Procedência: Não aplicável

Espécie: Ovinos

Gênero: Machos

idade: 2 meses

N: 36

Linhagem: Dorper x Santa Inês

Peso: 20 kg

Nota: Os óleos essenciais e os taninos possuem atividade antimicrobiana, e quando utilizados como estratégia nutricional na dieta de ruminantes podem reduzir as emissões de metano, sem afetar o desempenho dos animais, podendo melhorar a qualidade da carne.

Pirassununga, 14 de fevereiro de 2016

Daniele dos Santos Martins
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
Universidade de São Paulo

RESUMO

WELTER, Katiéli Caroline. **Extratos de plantas como aditivos naturais na dieta de cordeiros em terminação** 2018. 97f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2018.

Objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito dos aditivos naturais, óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra, na alimentação de cordeiros confinados em terminação sobre o desempenho produtivo e qualidade da carne. Foram utilizados 36 ovinos machos, não castrados, provenientes de cruzamento Dorper × Santa Inês × Texel, com 90 dias de idade, e peso vivo inicial médio de $27,22 \pm 2,78$ kg. O experimento teve duração total de 53 dias. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, utilizando como critério de bloqueamento o peso ao desmame, onde os animais foram distribuídos em três tratamentos, com doze repetições. Todos os tratamentos foram compostos por uma dieta padrão, sendo distintos apenas em relação aos aditivos utilizados: 1) dieta controle; 2) dieta controle com óleo essencial de orégano (1 ml/kg de concentrado) e 3) dieta controle com extrato de taninífero de acácia negra (5% MS da dieta). A dieta foi formulada com proporção volumoso: concentrado de 30:70. Os cordeiros foram destinados ao abate com aproximadamente 143 dias de idade, e peso vivo médio final médio de $42,81 \pm 3,97$ kg. O consumo e digestibilidade dos nutrientes e o desempenho produtivo (ganho de peso total, ganho médio diário e peso e rendimento de carcaça) dos cordeiros alimentados com óleo essencial de orégano foi semelhante ao dos alimentados com a dieta controle. No entanto, os cordeiros alimentados com extrato taninífero de acácia apresentaram menor consumo de MS (CMS), e redução de 19%, 20% e 50% da digestibilidade aparente total da MS, MO e FDN, respectivamente, em relação aos cordeiros alimentados com a dieta controle. Consequentemente, os cordeiros alimentados com extrato taninífero de acácia apresentaram menor ganho de peso e rendimento de carcaça quente e fria do que os alimentados com a dieta controle. O óleo essencial de orégano deixou a carne mais luminosa, no entanto, apresentou uma tendência de deixar a carne mais dura. O óleo essencial alterou a composição centesimal da carne e a concentração de TBARS, e aumentou o teor do ácido graxo DHA em 13% em relação ao tratamento controle. O extrato de acácia negra também aumentou a luminosidade da carne, porém, reduziu em 4% o teor de PB da carne e a concentração de TBARS em 28% em relação ao tratamento controle. O extrato taninífero tendeu a aumentar o teor de ácido

vacênico e de ômega 3. Adicionalmente, o extrato taninífero aumentou em 27% o total de CLA, quando comparado ao controle e óleo essencial de orégano. Pode-se concluir com o presente estudo que a inclusão de óleo essencial de orégano na dieta de cordeiros em terminação não altera o desempenho produtivo durante o confinamento e aumenta a luminosidade da carne, apesar de deixar a mesma mais dura; enquanto que a utilização de extrato taninífero de acácia reduz o desempenho produtivo, porém melhora a qualidade da fração lipídica e antioxidante da carne.

Palavras-chave: metano, nutrição, orégano, ruminantes, tanino.

ABSTRACT

WELTER, Katiéli Caroline. **Plant extracts as natural additives in finishing lamb diet** 2018. 97f. PhD Thesis (Doctorate in Science) - School of Food Engineering and Animal Science, University of São Paulo, 2018.

The present study aimed to evaluate the effect of natural additives, oregano essential oil and acacia taniniferous extract, in the diet of feedlot lambs on productive performance and meat quality. Thirty-six male lambs (not-castrated) from crossbreeding Dorper × Santa Inês × Texel, weaned, averring 90 d of age and 27 ± 2.8 kg body weight were used through 53 d of feedlot period in a randomized block design, where weight at weaning was the block criteria. The lambs were distributed into three treatments with 12 repetitions. All treatments were based on a regular diet (control), where natural plants extracts were designated to following treatments: 1) control (without additive), 2) control diet + oregano essential oil (1 ml/kg of concentrate), 3) control diet + acacia taniniferous extract (5% DM). Diets were formulated as 30:70 forage:concentrate ratio. Lambs were designated to slaughter averring 143 days of age and $42,81 \pm 3,97$ kg body weight. The nutrient intake and digestibility and productive performance (total body weight gain, average daily body weight gain and production and carcass yield) of lambs fed oregano essential oil were similar to those fed control diet. However, lambs fed acacia taniniferous extract had lower DM intake (DMI), and reduced by 19%, 20% and 50% the total apparent digestibility of DM, OM and NDF, respectively, compared to lambs fed control diet. Meat of lambs fed oregano essential oil was more luminous, however tended to be stronger. Oregano essential oil changed the centesimal composition of meat and TBARS, but increased concentration of DHA fatty acid by 13% compared to control treatment. Acacia taniniferous extract also increased the luminosity of meat, but reduced by 4% meat CP content and TBARS concentration by 28%, in relation to control treatment. Acacia taniniferous extract tended to increase vaccenic acid and omega 3 content. Additionally, taniniferous extract increased by 27% the total CLA, compared to control and oregano essential oil. We can conclude that the inclusion of oregano essential oil in the diet of feedlot lambs does not change productive efficiency and increase the luminosity of meat, although results in stronger meat; whereas the inclusion of acacia taniniferous extract reduce productive performance, but increase the quality of lipid fraction and antioxidant of meat.

Key-words: methane, oregano, nutrition, ruminants, tannins.

LISTA DE FIGURAS

Quadro 1. Estequiometria da conversão de glicose em AGCC.....20

Figura 1. Esquema representativo da síntese do CLA (C18:2 cis9 trans11) em ruminantes. O quadro a esquerda representa a via metabólica ocorrida no rúmen e o da direita a via metabólica que ocorre na glândula mamária ou tecido adiposo. Adaptado de Bauman e Griinari (2001).....32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais.	47
Tabela 2. Identificação e quantificação dos compostos secundários presentes no óleo essencial de orégano.	48
Tabela 3. Quantificação dos compostos presentes no extrato taninífero de acácia negra.	48
Tabela 4. Desempenho de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	54
Tabela 5. Consumo, digestibilidade da matéria seca e nutrientes da dieta e estimativa de emissão de metano de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	55
Tabela 6. Bioquímica sanguínea de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	56
Tabela 7. Hemograma de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	57
Tabela 8. Variáveis ruminais de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	58
Tabela 9. População de protozoários de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	59
Tabela 10. Histologia da cavidade ruminal e duodenal de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	60
Tabela 11. Rendimento e características de carcaça de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	61
Tabela 12. Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais.	78
Tabela 13. Identificação e quantificação dos compostos secundários presentes no óleo essencial de orégano.	79
Tabela 14. Quantificação dos compostos presentes no extrato taninífero de acácia negra.	79
Tabela 15. Perfil de ácidos graxos da dieta experimental.	82
Tabela 16. Características físicas da carne de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação. ...	84

Tabela 17. Análise centesimal, lipídeos e TBARS da carne de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	85
Tabela 18. Perfil de ácidos graxos do músculo <i>Longissimus dorsi</i> de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.	86
Tabela 19. Qualidade nutricional da fração lipídica do músculo <i>Longissimus dorsi</i> de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.....	88

SUMÁRIO

1. Introdução geral	16
1.1 Hipótese	18
1.2 Objetivo geral.....	18
1.3 Revisão de Literatura.....	18
1.3.1 O impacto das emissões de metano	18
1.3.2 Aditivos nutricionais na alimentação de ruminantes	22
1.3.3 Extratos naturais de plantas.....	23
1.3.3.1 Óleo essencial de orégano (<i>Origanum vulgare</i>)	23
1.3.3.2 Extrato taninífero de acácia negra (<i>Acacia mearnsii</i>)	26
1.3.4 Extratos naturais de plantas: benefícios na qualidade da carne.....	29
Referências Bibliográficas	34
2. Capítulo I. Desempenho produtivo de cordeiros confinados alimentados com extratos de plantas como aditivos naturais	41
Resumo	41
Abstract	42
2.1 Introdução	43
2.2 Material e Métodos.....	45
2.2.1 Animais, manejo e instalações	45
2.2.2 Período experimental, delineamento e dieta	46
2.2.3 Análise bromatológica e digestibilidade aparente total	49
2.2.4 Variáveis sanguíneas	50
2.2.5 Abate dos animais.....	51
2.2.6 Parâmetros ruminais.....	51
2.2.7 Histologia ruminal e intestinal	52
2.2.8 Rendimento das carcaças.....	53
2.2.9 Temperatura, pH, área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EGS).....	53
2.2.10 Análise estatística.....	53
2.3 Resultados	54
2.4 Discussão	61

2.5 Conclusão	67
Referência bibliográficas	68
3. Capítulo II. Qualidade da carne de cordeiros confinados alimentados com extratos de plantas como aditivos naturais	73
Resumo	73
Abstract	74
3.1 Introdução	75
3.2 Material e Métodos	77
3.2.1 Amostras, período experimental, delineamento e dieta	77
3.2.2 Características físicas da carne	80
3.2.3 Análise centesimal da carne	80
3.2.4 Perfil de ácidos graxos dos alimentos e da carne	81
3.2.5 Análise estatística	83
3.3 Resultados	84
3.4 Discussão	88
3.5 Conclusão	93
Referência bibliográficas	94

1. Introdução geral

A população mundial vem crescendo ao longo dos anos, em 2050 o mundo terá em torno de 9,6 bilhões de habitantes, conforme a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2017). Setenta por cento dessa população estará vivendo nas cidades e com uma renda média quase duas vezes maior do que hoje. Como resultado, a demanda global por produtos de origem animal continuará a crescer e desempenhar um papel fundamental na segurança alimentar e nutricional global (FAO, 2017). Melhorar os sistemas de produção animal, visando atender a esta crescente demanda, contudo, sem expandir áreas e produzir mais gases de efeito estufa, será um grande desafio para os nutricionistas nos próximos 30 anos.

O efeito estufa é um fenômeno natural resultante do balanço de entrada e saída de radiação solar superfície da Terra. No entanto, a crescente emissão de alguns gases tornou esse fenômeno em um grave problema, reduzindo a saída do calor e aumentando a temperatura terrestre. Entre os principais gases do efeito estufa podemos mencionar o dióxido de carbono, metano, óxido nitroso e clorofluorcarbonos (OLIVEIRA e IGARASI, 2013).

Embora o dióxido de carbono (CO_2) receba mais atenção como gás responsável pelo aquecimento global (SHARMA, 2011), o gás metano (CH_4) é um gás muito importante dentro do grupo dos gases do efeito estufa, pois ele apresenta um GWP (Global Warming Potential) de 28, ou seja, ele capta 28 vezes mais calor, apresenta maior absorção de radiação ultravioleta por molécula, quando comparado ao CO_2 em uma escala de tempo de 100 anos (IPCC, 2014).

Na produção animal, o gás mais produzido é o gás metano. Esse gás é emitido naturalmente por todos os ruminantes, pela fermentação entérica anaeróbica de alimentos. A produção de metano ocorre também a partir dos dejetos animais, principalmente quando manipulados na forma líquida, em condições de anaerobiose. Dessa forma, o metano produzido por ruminantes é reconhecidamente um problema ambiental (OLIVEIRA e IGARASI, 2013).

Apesar do metano ser naturalmente produzido pela microbiota ruminal, este resulta na redução do potencial produtivo do animal, pois ocorrem perdas energéticas que podem variar de 2 a 12% da energia bruta do alimento ingerido (JOHNSON; JOHNSON, 1995; HOWDEN; REYENGA, 1999). Assim, uma das maneiras de mitigar a produção de metano por ruminantes é por meio de alteração das características das dietas e no modo

de ação dos microrganismos ruminais, priorizando o uso de íons hidrogênio para produção de ácido propiônico, que é a mais eficiente fonte energética para o ruminante (BERGEN; BATES, 1984).

Diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o intuito de estudar estratégias nutricionais como o uso de aditivos naturais na mitigação da emissão do gás metano, pois a segurança do uso de aditivos químicos é constantemente questionada, havendo uma tendência ao uso de substâncias naturais. A proibição da utilização de antibióticos na nutrição animal pela União Europeia a partir de 2006 (Regulamentação 1831/2003/EC) conforme informado pela OJEU (2003), intensificou a procura por substâncias naturais capazes de modular a fermentação ruminal.

Produtos do metabolismo secundário das plantas, como os óleos essenciais e os taninos condensados, podem ser importantes estratégias nutricionais para a redução das emissões de metano, pois são estratégias sustentáveis para o desenvolvimento e intensificação da pecuária. No futuro, é possível que produtores que utilizarem estratégias de mitigação das emissões dos gases do efeito estufa, possam ser recompensados com créditos de carbono e isenção de impostos através de políticas públicas (BERNDT, 2010).

Os óleos essenciais, cujo termo “essencial” referente a “essência”, relacionado à capacidade dessa substância em fornecer odores específicos a muitas plantas (CALSAMIGLIA et al., 2007), são substâncias lipofílicas, líquidas e voláteis obtidas dos mais variados órgãos vegetais por meio da extração a vapor ou por solventes. Os óleos essenciais são capazes de modificar a fermentação ruminal (CALSAMIGLIA et al., 2007; BENCHAAAR et al., 2008) e geram alterações nas populações microbianas do rúmen, como confirmado em experimentos de biologia molecular (FERME et al., 2004).

Outra estratégia nutricional de grande importância na nutrição de ruminantes são os taninos condensados. Estes compostos são polímeros de flavonoides encontrados em muitas espécies de plantas consumidas por ruminantes. Tais polímeros, de elevado peso molecular, são resultado de mecanismos desenvolvidos ao longo da escala do processo evolutivo pelas plantas, como forma de defesa contra a herbivoria (MUIR, 2011). Estes componentes têm sido mostrados como capazes de exercer atividades anti-helmíntica, antimicrobiana e antioxidante em ruminantes, afetando positivamente o bem-estar animal e a qualidade dos produtos oriundos destes (LUCIANO et al., 2011).

Neste aspecto, o conhecimento mais aprofundado de compostos bioativos presentes em algumas espécies de plantas, como os efeitos da adição do óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra sobre a microbiota ruminal, pode auxiliar

no desenvolvimento de estratégias nutricionais sustentáveis que minimizem as emissões de metano pelos ruminantes, não alterando o desempenho dos animais, assim como, a qualidade do produto final, como a carne.

1.1 Hipótese

Extratos de plantas como aditivos naturais são capazes de exercer a modulação da fermentação ruminal, sendo possíveis substitutos de aditivos comerciais, deixando os produtos de origem animal isentos de antibióticos, acarretando na livre comercialização dos produtos de origem animal para qualquer lugar do mundo. O óleo essencial de orégano e o extrato taninífero de acácia negra na dieta de cordeiros confinados em terminação modificam a microbiota ruminal, por modos diferentes de ação, e quando utilizados como estratégia nutricional reduzem as emissões de metano sem afetar o desempenho dos animais, podendo melhorar a qualidade da carne por meio de alterações nas características físicas e do perfil de ácidos graxos.

1.2 Objetivo geral

Avaliar o efeito dos aditivos naturais, óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra, na alimentação de cordeiros confinados em terminação sobre o desempenho produtivo e qualidade da carne.

1.3 Revisão de Literatura

1.3.1 O impacto das emissões de metano

Existem alguns gases presentes naturalmente na atmosfera que são os chamados gases do efeito estufa. Esses gases são capazes de reter na atmosfera o calor irradiado pela superfície do planeta. Sem esses gases, a radiação infravermelha se dissiparia mais rapidamente da atmosfera para o espaço, e nosso planeta seria cerca de 30°C mais frio. Com eles, parte do calor irradiado pela superfície terrestre fica retido na atmosfera, mantendo a temperatura em níveis ótimos para a existência da maior parte da vida no planeta. A temperatura média da Terra é de 15°C; sem o efeito estufa, estima-se que seria de -15°C. O efeito estufa é um fenômeno natural, sendo fundamental à manutenção do clima e da vida no planeta Terra (IBGE, 2015).

Porém, devido a atividade humana, a emissão desses gases vem crescendo muito, e como consequência, a superfície terrestre está se tornando cada vez mais quente, ano após ano, de forma muito rápida. A elevação das temperaturas no planeta pode levar a sérios transtornos climáticos e ambientais, com intensificação de secas, extinção de espécies, perdas agrícolas, elevação do nível do mar, causando alagamento de áreas costeiras, trazendo sérios prejuízos econômicos. Desta forma, é de extrema importância o controle da emissão destes gases.

O gás metano (CH_4) é um dos gases de efeito estufa que contribui para o aquecimento da Terra. O aumento de sua concentração na atmosfera está altamente correlacionado com a expansão mundial da população humana, sendo as principais fontes os aterros sanitários, uso de combustíveis fósseis e práticas agrícolas (arroz cultivado inundado e pecuária) (ZOTTI; PAULINO, 2009). Após quase uma década de concentrações estáveis de CH_4 desde a final dos anos 90, as medições atmosféricas mostraram aumentos desde 2007 (IPCC, 2014).

A produção de metano pelos ruminantes ocorre de forma natural, é como uma forma de defesa para a estabilidade do pH ruminal, evitando acidose e outras doenças metabólicas. Os microrganismos digestores como bactérias, protozoários e fungos, primeiramente, hidrolisam o amido dietético e polissacarídeos da parede celular vegetal produzindo açúcares, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), dióxido de carbono (CO_2) e hidrogênio (H_2). Os açúcares e proteínas são então fermentados por microrganismos gerando produtos secundários como AGCC, amônia, hidrogênio e CO_2 . O excesso de H_2 no rúmen é eliminado pelas arqueias metanogênicas, que removem H_2 e reduzem CO_2 para formar CH_4 . A produção de CH_4 mantém a concentração baixa de hidrogênio no rúmen, o que permite o crescimento de diversas espécies bacterianas (TEIXEIRA; TEIXEIRA, 1998).

A estequiometria (Quadro 1) da conversão de um mol de glicose para AGCC e a proporção em que cada ácido é produzido, depende da espécie bacteriana, que pode ser especializada em produzir um tipo ou outro e principalmente da concentração de nicotinamida adenosina difosfato (NADH) e H_2 na célula (KOZLOSKI, 2002). De acordo com o balanço estequiométrico, a produção de acetato e de butirato promove maior produção de CH_4 pela maior produção de H_2 (TEDESCHI; FOX; TYLUTKI, 2003).

Quadro 1. Estequiometria da conversão de glicose em AGCC.

GLICOSE	= 2 acetato + 2 CO ₂ + 8 H	($\Delta H = -251 \text{ kcal mol}^{-1}$)
GLICOSE	= 1 butirato + 2 CO ₂ + 4 H	($\Delta H = -118 \text{ kcal mol}^{-1}$)
GLICOSE+4H	= 2 propionato	($\Delta H = + 60 \text{ kcal mol}^{-1}$)
GLICOSE	= 2 lactato	($\Delta H = - 16 \text{ kcal mol}^{-1}$)

Fonte: Kozloski (2002).

Para reduzir a produção de metano pelos ruminantes, é necessário que haja uma diminuição da liberação de H₂, que pode ser obtida reduzindo o fluxo total de matéria orgânica através da fermentação ruminal, ou pela manipulação da relação acetato:propionato:butirato (HEGARTY, 1999). Dietas contendo maiores quantidades de carboidratos solúveis levam a um menor pH ruminal do que dietas contendo forragens maduras, aliado a maiores taxas de fermentação, o que pode inibir a atividade de arqueias metanogênicas e de protozoários ciliados, aumentando assim a produção de propionato (VAN KESSEL; RUSSEL, 1996).

Entre as principais variáveis que influenciam a produção de metano em ruminantes, podem-se mencionar os fatores nutricionais, que estão acoplados a quantidade e tipo de carboidratos na dieta, nível de ingestão de alimento, presença de ionóforos ou lipídios (McALLISTER et al.; 1996). Os fatores metabólicos, também influenciam a produção de metano, compreendidos como a taxa de passagem da digesta, fatores ambientais ligados também à temperatura, manejo dos animais, além de estado fisiológico, tamanho corporal e principalmente a população de microrganismos ruminais como protozoários, bactérias e arqueias (PRIMAVESI et al.; 2004). A manipulação direta do rúmen relaciona-se com o uso de aditivos naturais ou químicos, que modificam a fermentação ao terem efeito sobre a microbiota ruminal (DOMINGUEZ; ESCOBAR, 1997). Dentre os aditivos naturais, podem ser mencionados o óleo essencial de orégano e o extrato taninífero de acácia negra.

Na tentativa de reproduzir os benefícios ruminais dos ionóforos, pesquisadores exploram as propriedades antimicrobianas dos compostos secundários vegetais. A complexidade dos ecossistemas microbianos ruminais torna a manipulação da fermentação um desafio importante para nutricionistas de ruminantes. Várias estratégias dietéticas têm sido sugeridas para minimizar a produção de CH₄ em ruminantes, sem afetar negativamente o desempenho dos animais. Por exemplo, extratos de plantas, tais como óleos essenciais, têm sido amplamente avaliados como aditivos na alimentação

animal para melhorar o metabolismo microbiano no rúmen, a degradação de proteínas, fermentação e a eficiência de reduzir a produção do CH₄.

Os efeitos de óleos essenciais são devido à sua atividade antimicrobiana contra microrganismos ruminais específicos. Apesar de uma extensa avaliação nos últimos anos, alguns aspectos da utilização de óleos essenciais na nutrição de ruminantes são ainda desconhecidos. Por exemplo, a composição de óleos essenciais em compostos ativos pode ser altamente variável e pode ser influenciada por fatores tais como a espécie de planta, fase de crescimento, as partes da planta utilizadas, a composição do solo, temperatura, pressão e método de extração. Os óleos essenciais da família *Lamiaceae* como orégano (*Origanum vulgare* L.) são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e propriedades medicinais, mas apenas poucos estudos investigaram as suas propriedades na mitigação de produção dos gases do efeito estufa pela microbiota do rúmen. Os resultados de ensaios experimentais têm mostrado que o óleo essencial de orégano, utilizados em altas concentrações, é um inibidor potente da produção ruminal de CH₄, é provavelmente devido à às propriedades antimicrobianas do carvacrol, seu principal composto bioativo (COBELLIS et al., 2015).

Outro aditivo natural usado na redução da emissão do metano são os taninos condensados. Estes compostos descrevem metabólitos não nutritivos de plantas, que são importantes para a sua sobrevivência (ou seja, a proteção contra herbívoros, pragas, microrganismos) e para seu crescimento e sua reprodução (PATRA; SAXENA, 2009). Os taninos condensados são compostos polifenólicos também responsáveis por esta proteção (DORMAN; DEANS, 2000; BURT, 2004). Os seus efeitos sobre a atividade dos microrganismos ruminais, no entanto, depende da espécie e composição química da planta. Os efeitos destes compostos podem ser alterados pelo pH do meio (PATRA; SAXENA, 2009).

A produção de metano a partir da fermentação ruminal foi diminuída até 50% em resposta ao tanino ou aos extratos de plantas contendo estes compostos polifenólicos (PATRA; SAXENA, 2010; GOEL; MAKKAR DE, 2012), e alguns autores têm sugerido que o peso molecular de taninos condensados tem um impacto direto sobre a produção de CH₄ com o impacto mais pronunciado em de peso molecular mais elevado (HUANG et al., 2011). Os taninos, portanto, são reconhecidos como compostos com uma elevada capacidade para reduzir a produção de CH₄ no rúmen (JOUANY; MORGAVI, 2007).

1.3.2 Aditivos nutricionais na alimentação de ruminantes

Os aditivos são descritos como “substância, microrganismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizado normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais”, sendo classificados como tecnológicos, sensoriais, nutricionais e zootécnicos (MAPA, 2016). Na nutrição de ruminantes os aditivos mais utilizados são os nutricionais, principalmente os ionóforos.

Os ionóforos (monensina e lasalocida) atualmente são uns dos aditivos mais utilizados na alimentação de ruminantes, pois aumentam a produtividade animal. Os ionóforos são assim chamados por conta da sua capacidade de transporte de íons. São capazes de interagir passivamente com íons e cátions, servindo assim como veículo de transporte para estes íons, através da membrana celular (RUSSEL E STROBEL, 1989). O principal mecanismo de ação dos ionóforos para melhorar a eficiência alimentar nos ruminantes está relacionado às mudanças na população microbiana do rúmen, selecionando as bactérias Gram negativas, produtoras de ácido propiônico e inibindo as Gram positivas, maiores produtoras de ácidos acético, butírico e láctico, além do H₂ e metano. Assim, atuam na redução do crescimento da população de bactérias Gram positivas que não possuem envelope extracelular (segunda membrana) que poderia dificultar a ação do ionóforo na membrana plasmática, como ocorre nas Gram negativas presentes no rúmen (McCAUGHEY; WITTENBERG; CORRIGAN, 1997). A grande eficiência dos ionóforos deve-se ao ácido propiônico, que é reconhecido como a mais eficiente fonte energética para os ruminantes, pois disponibiliza mais energia metabolizável do alimento (BERGEN; BATES, 1984).

Contudo, apesar dos ionóforos aumentarem a eficiência produtiva do animal, os mesmos também são classificados como antibióticos. Assim, existem movimentos para o término do uso de antibióticos como promotores de crescimento para animais de produção pela a crescente preocupação sobre os efeitos colaterais, como a resistência cruzada a medicamentos de uso humano. As bactérias Gram positivas, que são as mais suscetíveis aos efeitos dos antibióticos no rúmen, podem desenvolver resistência após certo período de exposição e pelo uso repetido dos ionóforos, seja por uma mutação na camada externa ou por algum aumento adaptativo na atividade da bomba iônica (NEWBOLD; WALLACE; WALKER, 1993; MORAIS; BERCHIELLI; REIS 2006).

Dessa maneira, a busca por alternativas para a manutenção da eficiência produtiva sem a utilização de antibióticos tem grande importância para a produção animal, com intuito de tornar o produto final mais seguro para o consumidor, este mais informado e, portanto, mais exigente atualmente. Assim, na Europa, predomina o princípio da precaução, ou seja, houve a proibição do uso de antibióticos na alimentação animal e comercialização de produtos de origem animal cujos sistemas de produção utilizaram ionóforos como insumo (RIBEIRO, 2014).

Pesquisas tem sido desenvolvidas para buscar alternativas ao uso de aditivos antibióticos na produção animal por meio de produtos naturais, aos quais, já foi creditado algum efeito antimicrobiano e que poderiam atuar como moduladores da fermentação ruminal, incrementando a eficiência produtiva. Neste contexto, algumas substâncias oriundas dos vegetais, tais como óleos essenciais e taninos, que são compostos secundários bioativos com atividade antimicrobiana que, quando são extraídos das plantas e concentrados na forma de extratos, podem ser explorados na nutrição de ruminantes, inibindo alguns grupos de microrganismos ruminais, por exemplo na formação do metano (BENCHAAAR, et al., 2007).

1.3.3 Extratos naturais de plantas

1.3.3.1 Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*)

Produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas, sem contribuição direta ao seu desenvolvimento, os óleos essenciais desempenham papel ecológico como mensageiros químicos entre as plantas e o ambiente. Assim, o termo “essencial” refere-se à “essência”, ou seja, a capacidade dessa substância em fornecer odores específicos a muitas plantas (CALSAMIGLIA et al., 2007).

O óleo essencial de orégano vem despertando interesse por possuir atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante, combatendo alguns tipos de bactérias que podem ser resistentes aos antibióticos. É um óleo frequentemente utilizado na conservação de alimentos pela indústria, devido à essas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (CHOULIARA, 2007). Possui um aroma característico forte, devido ao seu óleo essencial ter em sua composição uma grande parte de carvacrol (ZHANG et al., 2010). Ele é composto também, além do carvacrol, por concentrações de outros

compostos fenólicos, tais como timol, p-cimeno e γ -terpineno (MARINO; BERSANI; COMI, 1999).

No entanto, a proporção entre os componentes pode variar muito. Pode haver uma grande variação no rendimento e na composição do óleo essencial entre plantas da mesma espécie, e dentro de diferentes partes da mesma planta (BURT, 2004). A composição dos óleos essenciais de uma determinada espécie de planta pode diferir entre as colheitas estações e localizações geográficas. Vokou, Kokkini e Bessiere (1993) observaram que as concentrações dos principais compostos do óleo essencial de orégano (carvacrol, timol, p-cimeno e γ -terpineno) variaram entre as áreas geográficas, como na Grécia, local onde a planta foi colhida, por exemplo.

O modo de ação do carvacrol pode ser atribuído principalmente à capacidade de tornar a membrana das bactérias permeáveis, sobretudo a das bactérias Gram-positivas (LAMBERT et al., 2001; LAMBERT et al., 2004), reagindo com os lipídeos da membrana e os radicais hidroxilas, convertendo-os em produtos instáveis (YANISHLIEVA et al., 2001). Todavia, o carvacrol também pode ser capaz de desintegrar a membrana externa das bactérias Gram-negativas, o que aumentaria a permeabilidade da membrana citoplasmática (ULTEE et al., 2000; BURT, 2004).

O óleo essencial de orégano também apresenta propriedades antiparasitárias, sendo capaz de combater a atividade de alguns patógenos de origem alimentar, como exemplo, inibição da *Escherichia coli* (ELGAYYAR et al., 2001). Na produção de ruminantes, Chaves et al. (2008) verificaram que o carvacrol pode aumentar a proporção de propionato, sendo este, um precursor da glicose em ruminantes, que posteriormente poderá refletir em maiores ganhos de peso ao animal.

O orégano já foi utilizado com a intenção de melhorar a qualidade e quantidade de produtos de origem animal. Há indícios que o orégano melhorou o desempenho de crescimento em suínos (NAMKUNG et al., 2004), mas os resultados são controversos em aves. Embora, a suplementação dietética de orégano melhore desempenho de crescimento de frangos de corte, em alguns casos, há estudos que demonstram nenhum efeito do orégano nas características de crescimento (GIANNENAS, et al. 2005).

Simitzis et al. (2008) apesar de não observar diferenças significativas no peso final e no rendimento de carcaça de ovinos suplementados com óleo essencial de orégano, observaram resultados positivos nas características qualitativas da carne, nos parâmetros de coloração, as quais foram atribuídas, principalmente, ao retardo da oxidação lipídica promovida pela adição do óleo essencial. Isto demonstra que o poder antioxidante de

alguns extratos naturais pode refletir na qualidade da carne, principalmente, após períodos de estocagem.

Os óleos essenciais podem suprimir a colonização e digestão de substratos facilmente degradáveis por bactérias amilolíticas e proteolíticas sem afetar a digestão de fibra (SKANDAMIS et al., 2001). Os óleos essenciais podem também alterar os AGCC produzidos na fermentação ruminal. Alterações na produção de AGCC no rúmen devido à adição de óleo essencial na dieta podem ser mais evidentes em situações de baixo pH ruminal, sugerindo a não dissociação da forma hidrofóbica das moléculas ativas do óleo essencial, agindo sobre a membrana da célula dos microrganismos ruminais (CARDOSO et al., 2005; SPANGHERO et al., 2008). Devido a sua natureza lipofílica, óleos essenciais têm uma elevada afinidade para as membranas celulares dos microrganismos ruminais.

Os microrganismos metanogênicos ruminais são afetados somente em concentrações elevadas de óleos essenciais (McINTOSH et al., 2003). Há evidências que os óleos essenciais causam mudanças nas comunidades de arqueias, e por consequência na atividade metanogênica, reduzindo a taxa de produção de CH₄ no rúmen (OHENE-ADJEI et al., 2008). Os óleos essenciais podem impedir o crescimento de fungos, vírus, protozoários e algumas espécies metanogênicas, efetuando a seletividade (JOUANY; MORGAVI, 2007; PATRA; SAXENA, 2011). No entanto, os microrganismos ruminais podem ser capazes de se adaptar a exposição aos óleos essenciais, o que pode torna-los ineficazes no longo prazo na alimentação dos animais, porém ainda causando o efeito agudo inicial, que é a redução da produção de CH₄ (BENCHAAAR; GREATHEAD, 2011).

Conforme revisão descrita por Benchaara e Greatheadb (2011) o potencial dos óleos essenciais para inibir seletivamente a metanogênese ruminal foi demonstrada principalmente *in vitro*, quando foram utilizados altos níveis de dosagem (>300 mg/L). A aplicação *in vivo* de aditivos para rações à base de óleo essencial pode ser limitada pela adaptação dos microrganismos do rúmen a este compostos e a capacidade da microflora ruminal degradar e/ou metabolizar esses metabólitos secundários. Pesquisas devem ser desenvolvidas para garantir que os compostos possam ser usados com segurança na produção animal para aumentar a produtividade animal e reduzir impactos ambientais da produção animal, evitando a toxicidade pelos animais, utilizadores e consumidores, a palatabilidade e os efeitos na qualidade organoléptica dos produtos de origem animal.

Contudo, também é de suma importância ressaltar o alto custo desse aditivo, pois na maior parte dos casos, não há retorno econômico favorável para sua adoção o que pode inviabilizar a sua utilização em larga escala (CHIZZOTTI et al., 2012). Esse custo pode ser reduzido se houver a produção em maior escala das plantas aromáticas que são as matérias primas, possibilitando o uso de sistemas de extração de maiores dimensões e eficientes. Assim, desenvolver pesquisas para comprovar sua eficácia torna-se crucial para que esse aditivo possa ser inserido no mercado de nutrição de ruminantes, viabilizando a produção, pela redução das emissões de metano e melhora na qualidade da carne para o consumo humano.

1.3.3.2 Extrato taninífero de acácia negra (*Acacia mearnsii*)

Os taninos são substâncias polifenólicas com variados pesos moleculares e complexidade, sendo classificados em hidrolisáveis (poliésteres de ácido gálico e açúcares) e condensados (polímeros de flavonoides), dependendo do arranjo estrutural da molécula e da reatividade desta (VAN SOEST, 1994). A atividade anti-metanogênica dos taninos presentes nas plantas tem sido atribuída, principalmente, ao grupo de taninos condensados (TC). Taninos hidrolisáveis, embora também afetem a metanogênese, são considerados mais tóxicos para os animais (FIELD; KORTEKAAS; LETTINGA, 1989).

Dentre os principais efeitos dos taninos sobre a microbiota ruminal, inclui-se a ação bacteriostática, o que dificulta a adesão pelos microrganismos na parede celular (PATRA; SAXENA, 2011), reduz a população de bactérias celulolíticas e contribui para a redução da metanogênese (BODAS et al., 2012). Os efeitos inibitórios dos taninos sobre a metanogênese no rúmen também podem ser atribuídos a efeitos diretos sobre arqueias metanogênicas e protozoários, e indiretamente através da supressão do crescimento de bactérias celulolíticas ocasionando menor degradação da fibra (PATRA; SAXENA, 2011).

Os taninos formam complexos, principalmente, com proteínas e, em menor grau, com íons metálicos, aminoácidos e polissacarídeos, reduzindo a digestibilidade destes. Apesar dos taninos diminuírem a disponibilidade de nutrientes, eles causam uma mudança na partição desses, carreando a maior proporção dos nutrientes disponíveis para a síntese de massa microbiana e menos para a produção de ácidos graxos de cadeia curta. Entretanto, a presença de baixas concentrações de taninos na dieta pode ser utilizada como potencial modulador da fermentação ruminal, repercutindo no maior desempenho

animal atribuído a proteção da proteína dietética da degradação do rúmen. A inclusão de taninos na dieta também aumenta a produção de propionato, reduzindo a relação acetato: propionato (MORAIS; BERCHIELLI; REIS, 2006).

A ação dos taninos condensados na metanogênese pode ser atribuída a um efeito indireto, pela redução na produção de H_2 , como consequência da redução na digestibilidade da fibra, e por efeito inibitório direto na população metanogênica (WOODWARD et al., 2001). Dentre os principais efeitos dos taninos sobre a microbiota ruminal, inclui-se a ação bacteriostática, dificultando a adesão pelos microrganismos na parede celular, reduzindo a população de bactérias celulolíticas, e consequentemente das metanogênicas (PATRA; SAXENA, 2011; BODAS et al., 2012).

A nutrição de ruminantes é norteadada pela tentativa de melhorar ou modular positivamente a eficiência de fermentação ruminal. Em termos gerais, consiste em aumentar a produção de ácido propiônico e diminuir algumas perdas, tais como as decorrentes da formação em excesso de gás metano, da ação das bactérias proteolíticas com desaminação em excesso no rúmen das proteínas de alto valor nutritivo que poderiam ser absorvidas no intestino delgado (RIBEIRO, 2014).

A inclusão dos taninos na dieta pode melhorar a eficiência de utilização da proteína para os ruminantes, sendo uma estratégia interessante em qualquer época do ano, ainda mais tendo em vista o elevado custo em adicionar este nutriente nos sistemas de produção, seja por meio de concentrados proteicos ou leguminosas, estas últimas conservadas ou utilizadas como bancos de proteína. As principais vantagens dos taninos nas dietas são a proteção da proteína alimentar da degradação ruminal, aumentando a absorção intestinal de aminoácidos provenientes da dieta (*by pass*), o aumento da resistência parasitária, redução da incidência de algumas doenças, como é o caso da acidose e do timpanismo, diminuição do nitrogênio excretado na urina (GETACHEW; MAKKAR; BECKER, 2000).

Segundo Minho et al. (2010) com o aumento dos relatos de resistência de helmintos aos antihelmínticos químicos convencionais, alguns metabólitos secundários de plantas têm sido testados e avaliados para a verificação do seu potencial no controle de nematoides gastrointestinais em ruminantes, entre eles pode mencionar o uso de taninos condensados.

Na nutrição de ruminantes o efeito mais conhecido dos taninos é o de formar complexos com as proteínas. Um mol de taninos pode complexar 12 mols de proteínas e esta ligação pode ocorrer por meio de ligações de hidrogênio entre os grupos fenólicos

dos taninos e alguns sítios das proteínas, conferindo certa estabilidade aos complexos formados. Os compostos fenólicos, são encontrados como ésteres apresentando solubilidade em água e solventes orgânicos polares. As interações entre os taninos condensados e as proteínas ocorrem mais frequentemente por meio de ligações de hidrogênio, enquanto interações iônicas e covalentes são menos comuns. O grupo fenol dos taninos é doador de hidrogênio formando ligações com o grupo carboxílico (-COOH) da proteína. As proteínas que apresentam uma estrutura mais aberta e aquelas abundantes na quantidade de aminoácido prolina possuem um coeficiente de complexação maior, enquanto as glicoproteínas, proteínas globulares e aquelas de baixo peso molecular têm baixa afinidade com os taninos (RIBEIRO, 2014).

A capacidade complexante dos taninos com as proteínas é dependente do pH ruminal, sendo maximizada em meios cujo pH está próximo ao ponto isoelétrico da proteína a ser ligada. Em geral, é favorável em pH 3,5 a 7,0 e em caso de pH superior a 8,0, o complexo é desfeito, assim como em pH 1,0 a 3,0, em que cerca de 90% da proteína está na forma livre. Deste modo, a formação do complexo é favorecida no rúmen (pH em torno de 6,5), sendo o complexo dissociado no abomaso (pH cerca de 2,0-3,0) de forma a possibilitar a digestão enzimática da proteína no intestino delgado (LEINMÜLLER; STEINGASS; MENKE, 1991).

O modo de ação antimicrobiano dos taninos se deve, principalmente, ao potencial dos compostos polifenólicos reagirem e ligarem-se à membrana celular bacteriana e com as enzimas extracelulares secretadas (capacidade complexante). Estas interações inibem o transporte dos nutrientes pela parede celular, retardando o crescimento microbiano. As bactérias *Fibrobacter succinogenes* e algumas envolvidas com atividade proteolítica (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminobacter amylophilus* e *Streptococcus bovis*) foram inibidas na presença de taninos (McSWEENEY et al., 2001).

Em geral, o efeito dos taninos condensados é dependente da dose, com concentrações entre 20 a 45 g/kg de matéria seca (MS) da dieta podendo produzir efeitos benéficos, enquanto valores superiores a 55 g/kg MS seriam responsáveis por prejuízos ao metabolismo animal (MIN, et al. 2003). Aerts, Barry e McNabb (1999) afirmaram que se ingerido em alta quantidade, ou seja, acima de 60 g/kg MS da dieta, os taninos condensados podem ocasionar efeito depressivo sobre o consumo voluntário e redução na eficiência do processo digestivo e na produtividade de ruminantes, primeiramente devido à sua adstringência e ainda pela elevada de complexação do substrato disponível

para fermentação. A possibilidade de aumento no desempenho ocorre quando baixas concentrações de taninos condensados são utilizadas na nutrição de ruminantes.

Os taninos possuem um sabor adstringente que se deve à precipitação de glicoproteínas salivares levando à redução do poder lubrificante, sendo fundamentais para a formação das características organolépticas de alguns produtos como, por exemplo, o sabor e aparência do vinho tinto em seu processo de envelhecimento, e ainda, naturalmente, são constituintes de chás e alguns sucos de frutas, além de outras bebidas (SINGLETON, 1992).

Uma das principais espécies utilizadas para extração de taninos em escala industrial é a acácia negra (*Acacia mearnsii*). O extrato taninífero é obtido a partir da casca da acácia negra, por meio da extração com água quente, evaporação a vácuo e subsequente secagem por pulverização, tendo como características a alta solubilidade em água, estado sólido pó de cor marrom, sabor adstringente, contendo no mínimo 75% de polifenóis totais, com conteúdo de taninos condensados descrito como 72,5% no extrato bruto obtido. O extrato de acácia é um produto amplamente utilizado no curtimento de couro, produção de tintas, colas fenólicas, clarificação de cervejas e vinhos (RIBEIRO, 2014).

Carulla et al. (2005) observaram redução na emissão de metano (cerca de 13%) quando utilizaram 41 g/kg MS da dieta na forma de extrato tanífero oriundo da casca de *Acacia mearnsii* oferecida para ovelhas. Resultados positivos neste quesito também foram obtidos por Cieslak et al. (2012) que obtiveram uma redução da produção de metano e na concentração de amônia em bovinos, em cerca de 8 e 46%, respectivamente.

Os taninos apresentam efeitos positivos e negativos sobre o valor nutricional das dietas fornecidas, sendo que os fatores que influenciam estes efeitos são o nível de proteína bruta na dieta e sua degradabilidade, a energia disponível para a síntese de proteína microbiana e a concentração deste aditivo. A concentração de tanino condensado utilizado na alimentação animal pode influenciar ou não o consumo, desempenho e a qualidade da carne.

1.3.4 Extratos naturais de plantas: benefícios na qualidade da carne

A produção e o consumo de carne da carne ovina está em ascensão no mercado nacional. O rebanho ovino no Brasil previsto para 2018 dever chegar a 18,9 milhões de cabeças (IBGE, 2017). Esse crescimento na produção deverá ser acompanhado pela

qualidade e padronização, pois a carne ovina precisa ganhar o mercado consumidor, que está cada vez mais informado e exigente. A carne ovina é uma fonte de proteína de alto valor biológico e está presente na dieta de diferentes populações do mundo.

O uso de antioxidantes na dieta de cordeiros ou diretamente na carne apresenta relevada importância para a cadeia de comercialização da carne ovina do Brasil, tendo em vista o baixo fluxo de comercialização nas gôndolas dos supermercados que esta carne tende a ter, casas de carne e açougues, onde algumas empresas distribuidoras, optam por congelar os cortes para que não haja perda do produto. Considerando ainda que a carne resfriada tem maior poder atrativo para o consumidor em relação à carne congelada, o uso de antioxidantes pode aumentar a vida de prateleira sem causar efeitos negativos na qualidade da carne (MORENO, et al., 2016).

Antioxidantes é um conjunto heterogêneo de substâncias formado por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais e, ainda, enzimas, que bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres, formados nas reações metabólicas ou por fatores exógenos, ao organismo. Os antioxidantes são definidos como substâncias capazes de diminuir ou prevenir a oxidação de outras moléculas presentes em baixas concentrações quando comparadas ao substrato oxidável (HALLIWEL et al., 1995). Estes podem estar presentes naturalmente ou serem adicionados intencionalmente nos alimentos, mantendo intactas suas características sensoriais, além de não causar efeitos fisiológicos negativos, serem lipossolúveis, resistentes aos processos de conservação dos alimentos e ativos em baixas temperaturas (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de plantas. Muitas ervas e especiarias utilizadas como condimentos em alguns pratos, são excelentes fontes de compostos fenólicos, tais substâncias têm demonstrado alto potencial antioxidante, podendo ser usadas como conservantes naturais para alimentos (RICE-EVANS *et al.*, 1996; ZHENG, WANG, 2001). Antioxidantes fenólicos atuam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais (SHAHIDI et al., 1992), agindo, nas etapas de iniciação e propagação do processo oxidativo. Com a comprovação da atividade antimicrobiana de diversos óleos essenciais, inclusive do orégano, os pesquisadores examinaram o potencial destes para modificar populações microbianas do rúmen, a fim de aumentar a eficiência da fermentação ruminal e melhorar a utilização de nutrientes (BENCHAAAR, GREATHEAD, 2011)

A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis tornando os alimentos impróprios para o consumo, além de também

provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos potencialmente tóxicos (KUBOW, 1993). Óleos essenciais têm uma grande variedade de efeitos sobre a saúde, incluindo efeitos positivos nas doenças cardiovasculares, alguns tumores, processos inflamatórios e, em geral, doenças em que a proliferação descontrolada de radicais é muito prejudicial. Estas propriedades dependem de sua capacidade de eliminar os radicais livres, inibir a peroxidação de lipídios de membrana, quelatar metais e estimular a atividade de enzimas antioxidantes (GUTIEREZ et al., 2003; LEE et al., 2003).

Simitzis et al. (2008) ao avaliar o efeito da suplementação com óleo de orégano na dieta sobre a qualidade da carne de cordeiros, observaram que valores da cor a^* (intensidade de vermelho) e b^* (intensidade de amarelo) no músculo *Longissimus thoracis* dos ovinos foram maiores quando comparados aos que foram submetidos à dieta controle. Os autores explicam que é possível que o óleo essencial de orégano modifique indiretamente a coloração, provavelmente por diminuir a oxidação da hemoglobina e ativando mecanismos que modificam a distribuição dos pigmentos nos tecidos dos animais.

Outro extrato de planta que apresenta resultados benéficos na qualidade da carne são os taninos. Os taninos são grupos complexos de compostos polifenólicos solúveis em água que são formados a partir do metabolismo das plantas, e podem se ligar aos radicais livres, conferindo alta propriedade antioxidante (LIU et al., 2016).

Apesar da generalização que os taninos eram tóxicos para os ruminantes ou prejudicavam o desempenho, agora é reconhecido que estes compostos fenólicos podem ser prejudiciais ou benéficos, dependendo do tipo e estrutura química, quantidade ingerida e espécies animais (MAKKAR, 2003), o que é provavelmente relacionados aos seus efeitos conhecidos sobre a microbiota ruminal (McSWEENEY et al., 2001). Variações na suscetibilidade de bactérias microbianas populações de diferentes ruminantes aos efeitos dos taninos da dieta (FRUTOS et al., 2004) também podem ser aplicável às populações de bactérias responsáveis pelas diferentes etapas da biohidrogenação de ácidos graxos insaturados no rúmen.

O ácido rumênico (18:2 *cis*-9 *trans*-11) é o principal isômero de ácido linoléico conjugado (CLA) em produtos derivados de ruminantes, sendo considerado o principal componente de potenciais efeitos promotores da saúde humana (PARIZA et al., 2001). A

principal fonte do ácido rumênico é a síntese endógena, via dessaturação do ácido vacênico (18:1 *trans*-11) na glândula mamária ou em outros tecidos do corpo (PALMQUIST, 2005). Em ruminantes, o ácido linoléico dietético ácido (18:2 *cis*-9 *cis*-12) é biohidrogenado no rúmen por microrganismos, resultando em acúmulo de uma ampla gama de intermediários, tais como ácido rumênico, que é então reduzido a ácido vacênico e finalmente a 18:0, ácido esteárico (PALMQUIST et al., 2005). Caso haja hidrogenação ruminal parcial ou incompleta poderá promover a acumulação de ácido vacênico no rúmen como um meio de aumentar o conteúdo CLA em carne ou leite.

A origem dos ácidos graxos com mais de 18:0 carbonos provem da dieta, mobilização corporal e também de forma endógena. Muitos ácidos graxos de cadeia longa são formados no tecido, onde a enzima delta-9-dessaturase utiliza o ácido vacênico (18:1 *trans*11), na formação do ácido linoleico conjugado e o ácido esteárico (18:0) para a formação do ácido oleico (18:1 *cis*9) conforme Bauman e Griinari (2001), como pode ser observado na figura 1.

Figura 1. Esquema representativo da síntese do CLA (C18:2 *cis*9 *trans*11) em ruminantes. O quadro a esquerda representa a via metabólica ocorrida no rúmen e o da direita a via metabólica que ocorre na glândula mamária ou tecido adiposo. Adaptado de Bauman e Griinari (2001).

A capacidade de extratos vegetais, incluindo taninos e óleos essenciais, de reduzir a formação do gás metano é devido acúmulo de hidrogênio no rúmen, e ácidos graxos insaturados podem fornecer um dissipador de hidrogênio alternativo (CZERKAWSKI et al., 1966). Estudos relataram que alguns óleos vegetais ricos em ácidos graxos insaturados diminuem a produção de CH₄ e alteram a fermentação devido à biohidrogenação e efeitos tóxicos de ácidos graxos de cadeia média ou poliinsaturados sobre os microrganismos

metanogênicos (McGINN et al., 2004). Assim, os extratos de plantas podem vir a modificar a composição de ácidos graxos de produtos derivados de ruminantes (leite ou carne), melhorando a qualidade da fração nutricional lipídica, além de minimizar os efeitos ambientais causados pelas emissões de metano.

Referências Bibliográficas

AERTS, R. J.; BARRY, T. N.; McNABB, W. C. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. **Agriculture Ecosystem and Environment**, v. 75, p. 1-12, 1999.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**. v.70, p.15-29, 2001.

BENCHAAR, C. et al. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.886-897, 2007.

BENCHAAR, C. et al. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1/4, p. 209-228, 2008.

BENCHAAR, C.; GREATHEAD, H. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166-167, p. 338-355, 2011.

BERGEN, W. G.; BATES, D. B. Ionophores: Their effect on production, efficiency and mode of action. **Journal of. Animal. Science**, v.58, p.1465-1483, 1984.

BERNDT, A. **Impacto da pecuária de corte brasileira sobre os gases do efeito estufa**. In: 7º Simpósio de Produção de Gado de Corte. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2010.

Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125797/1/PRODI-2010.00331.pdf>. Acesso dia 20 de julho de 2016.

BODAS, R. et al. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, p. 78-93, 2012.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CALSAMIGLIA, S. et al. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 2580-2595, 2007.

CARDOZO, P. et al. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. **Journal Animal Science**, v. 83, p. 2572-2579, 2005.

CARULLA, J. E. et al. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 56, p. 961-970, 2005.

CHAVES, A. V. et al. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1-4, p. 396-408, 2008.

CHIZZOTTI, M.L. et al. **Uso da nutrição para redução na geração de metano: eficiência no uso da energia para ruminantes x meio ambiente**. 30 p, 2012. Disponível em:

<http://www.sbprc.famev.ufu.br/sites/sbprc.famev.ufu.br/files/Uso%20da%20nutri%C3%A7%C3%A3o%20para%20redu%C3%A7%C3%A3o%20na%20gera%C3%A7%C3%A3o%20de%20metano%20Efici%C3%Aancia%20no%20uso%20da%20energia%20para%20ruminantes%20x%20meio%20ambiente.pdf>. Acesso: 01 de agosto de 2016.

CHOULIARA, E. et al. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. **Food Microbiology**, v. 24, p. 607–617, 2007.

CIESLAK, A. et al. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation *in vivo*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, p. 102-106, 2012.

COBELLIS, G. et al. Evaluation of the effects of mitigation on methane and ammonia production by using *origanum vulgare* L. and *rosmarinus officinalis* L. essential oils on *in vitro* rumen fermentation systems. *Sustainability*, v. 7, p: 12856-12869, 2015.

DOMINGUEZ, M. G.; ESCOBAR, A. Rumen manipulation for the improved utilization of tropical forages. **Animal Feed Science and Technology**, v. 69, n. 2, p. 97-102, 1997.

DORMAN, H. J; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, v. 88, n. 2, p. 308-16, 2000.

ELGAYYAR, M. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 7, p. 1019-24, 2001.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. Disponível em: http://www.fao.org/ag/againfo/home/en/news_archive/2017_More_Fuel_for_the_Food_Feed.html

FERME, D. et al. The effects of plant extracts on microbial community structure in a rumen-simulating continuous-culture system as revealed by molecular profiling. **Folia Microbiologica**, v. 49, n. 2, p. 151-155, 2004.

FIELD J. A.; KORTEKAAS, S.; LETTINGA, G. The tannin theory of methanogenic toxicity. **Biological Wastes**, v. 29, p. 241-262, 1989.

FRUTOS, P. et al. An *in vitro* study on the ability of polyethylene glycol to inhibit the effect of quebracho tannins and tannic acid on rumen fermentation in sheep, goats, cows and deer. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 55, p. 1125–1132. 2004.

GETACHEW, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Tannins in tropical browser: effects on in vitro microbial fermentation and microbial protein synthesis in media containing different amount of nitrogen. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.3581-3588, 2000.

GETACHEW, G. G. et al. Laboratory variation of 24h in vitro gas production and estimated metabolizable energy values of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 102, p. 169-180, 2002.

GIANNENAS, I. A. et al. Effect of supplementing feed with oregano and/or α -tocopheryl acetate on growth of broiler chickens and oxidative stability of meat. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 14, p. 521–535, 2005.

GOEL, G.; MAKKAR, H. P. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. **Tropical Animal Health Production**, v. 44, p. 729-39, 2012.

HEGARTY, R. S. Mechanisms for competitively reducing ruminal methanogenesis. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, n. 8, p. 1299-1305, 1999.

HOWDEN, S. M.; REYENGA, P. J. Methane emissions from Australian livestock: implications of the Kyoto Protocol. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 1285-1291, 1999.

HUANG, X. D. et al. Effects of Leucaena condensed tannins of differing molecular weights on in vitro CH₄ production. **Animal Feed Science Technology**, p .373–376, 2011.

IBGE – **Indicadores de desenvolvimento sustentável**. Brasil, 2015. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv94254.pdf>. Acesso em 01 de agosto de 2016.

IBGE – **Produção ovinos e caprinos**. 2017. Disponível em: http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/ovinos_caprinos_balanco_2017.pdf. Acesso em 01 de agosto de 2018.

IPCC. Intergovernmental panel on climate change. CLIMATE CHANGE 2014 Mitigation of Climate Change. Disponível em: https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg3/WGIIIAR5_SPM_TS_Volume.pdf. Acesso dia 20 de julho de 2018.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emission from cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 8, p. 2483-2492, 1995.

JOUANY, J. P; MORGAVI, D. P. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. **Animal**. v. 1, p. 1443-66, 2007.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1 ed. Santa Maria: UFSM. 2002, 140 p.

KUBOW, S. Nutritious Reviews. 1993, 51, 33.

LAMBERT, R. J. W. et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 3, p. 453-462, 2001.

LAMBERT, C. et al. 2-Methoxyestradiol induces caspase-independent, mitochondria-centered apoptosis in DS-sarcoma cells. **International Journal of Cancer**, v. 108, n. 4, p. 493-501, 2004.

LEINMÜLLER, E.; STEINGASS, H.; MENKE, K. Tannin in ruminant feedstuffs. **Animal Research and Development**, v. 33, p. 9-62, 1991.

LIU, H. et al. Effects of chestnut tannins on the meat quality, welfare, and antioxidante status of heat-stressed lambs. **Meat Science**, v.116, p.236–242, 2016.

LUCIANO, G. et al. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of *longissimus dorsi* muscle from lambs fed a tannin-containing diet. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1036-1042, 2011.

MARINO, M. BERSANI, C. COMI, G. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. **Journal of Food Protection**, v. 62, p. 1017–1023, 1999.

MAKKAR, H. P. S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, p.241-256, 2003.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. 2016.
Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos>. Acesso dia 28 de julho de 2018.

McALLISTER, A. T. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 76, p. 231 -243, 1996.

McINTOSH, F. M. et al. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 5011–5014, 2003.

McCAUGHEY, W.P.; WITTENBERG, K.; CORRIGAN, D. Methane production by steers on pasture. **Canadian Journal of Animal Science**, v.77, p.519-524, 1997.

McSWEENEY, C. S. et al. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 83-93, 2001.

MIN, B. R. et al. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants feed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 105, p. 3-19, 2003.

MINHO, A. P. et al. Efficacy of condensed tannin presents in acacia extract on the control of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1360-1365, 2010.

MORAIS, J.A.S.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A. Aditivos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.539-561, 2006.

MORENO, G. M. B., et al. Qualidade da carne de cordeiros: genótipo e manejo nutricional. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 19 n. 3, 2016.

MUIR, J. P. The multi-faceted role of condensed tannins in the goat ecosystem. **Small Ruminant Research**, v. 98, p. 115–120, 2011.

NAMKUNG, H. et al. Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, p. 697–704, 2004.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; WALKER, N. D. The effect of tetronasin and monensin on fermentation, microbial numbers and the development of ionophore resistant bacteria in the rumen. **Journal of Applied Bacteriology**, v.75, p.129-134, 1993.

OHENE-ADJEI, S. et al. Evidence of increased diversity of methanogenic archaea with plant extract supplementation. **Microbial Ecology**. v. 56, p. 234–242, 2008.

OJEU, 2003. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. **Official Journal of the European Union**. Page L268/36 in OJEU of 10/18/2003. Brussels, Belgium.

OLIVEIRA, R.C. e IGARASI, M.S. Utilização de óleos essenciais na mitigação da metanogênese. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 6, Ed. 229, Art. 1515, Março, 2013.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 33-49.

PALMQUIST, D. L. et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. **Advances in Food and Nutrition Research**, v.50, p.179-217, 2005.

PARIZA, M. W. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**. 40, 283–298, 2001

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 96, p. 363-375, 2009.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in ruminants. **Phytochemistry**, v. 71, p. 1198-1222, 2010.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 24-37, 2011.

PRIMAVESI, O. et al. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 3, p. 277-283, 2004.

RICE-EVANS, C. et al Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RIBEIRO, S. S. **Extrato tanífero de *acacia mearnsii* como aditivo na nutrição de ruminantes**. 2014. 81 f. Tese - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2014.

RUSSELL, J. B.; STROBEL, H. J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, p.1-6, 1989.

SHARMA, S. S. Determinants of carbon dioxide emissions: Empirical evidence from 69 countries. **Applied Energy**, v. 88, p. 376-382, 2011.

SIMITZIS, P. E. et al. Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. **Meat Science**, v. 79, p. 217–223, 2008.

SINGLETON, V. L. Tannins and the qualities of wines. **Plant Polyphenols**, v.59, p.859-880, 1992.

SHAHIDI, F. et al. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 32, n.1, p.67-103, 1992.

SKANDAMIS, P. et al. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on Escherichia coli O157:H7. **Italian Journal of Food Science**, v. 13, p. 65-75, 2001.

SPANGHERO, M. et al. Effects of a blend of essential oils on some end products of in vitro rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, p. 364–374, 2008.

TEDESCHI, L. O.; FOX D.G.; TYLUTKI, T. P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal Environmental Quality**, v. 32, n. 7, p. 1591-602. 2003.

TEIXEIRA J. C.; TEIXEIRA L. F. A. C. **Do alimento ao leite: Entendendo a função ruminal**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1998, 74 p.

ULTEE, A. et al. Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. **Archives of Microbiology**, v. 174, n. 4, p. 233-238, 2000.

VAN KESSEL, J. S.; RUSSEL, J. B. The effect of pH on ruminal methanogenesis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 20, n. 4, p. 205-210, 1996.

VAN SOEST, P. J. **Plant defensive chemicals**. In: Nutritional ecology of the ruminant. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. Cap. 13, p. 196-212.

VOKOU, D., KOKKINI, S., BESSIERE, J. M. Geographic variation of greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 21, p.287–295, 1993.

WOODWARD, S. L. et al. Early indications that feeding *Lotus* will reduce methane emissions from ruminants. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 61, p. 23-26, 2001.

YANISHLIEVA, N. et al. **Antioxidants in Foods: Practical Applications**. CRC Press, 2001.

ZHANG, W. et al. Improving functional value of meat products. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 15-31, 2010.

ZHENG, W.; WANG, S. Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

ZOTTI, C. A.; PAULINO, V. T. **Metano na produção animal: emissão e minimização de seu impacto**. 2009. Instituto de Zootecnia, APTA/SAA. Disponível: <http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1259324182.pdf>. Acesso 13 de julho de 2016.

2. Capítulo I. Desempenho produtivo de cordeiros confinados alimentados com extratos de plantas como aditivos naturais

Resumo

Objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da inclusão de óleo essencial de orégano e de extrato taninífero de acácia negra na dieta de cordeiros em confinamento sobre o metabolismo digestivo e sanguínea e desempenho produtivo. Foram utilizados 36 ovinos machos, não castrados, provenientes de cruzamento Dorper × Santa Inês × Texel, com 90 dias de idade, e peso vivo inicial médio de $27,22 \pm 2,78$ kg. O experimento teve duração total de 53 dias. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, utilizando como critério de bloqueamento o peso ao desmame, onde os animais foram distribuídos em três tratamentos, com doze repetições. Todos os tratamentos foram compostos por uma dieta padrão, sendo distintos apenas em relação aos aditivos utilizados: dieta controle; dieta controle com óleo essencial de orégano (1 ml/kg de concentrado) e dieta controle com extrato de taninífero de acácia negra (5% MS da dieta). A dieta foi formulada com proporção volumoso: concentrado de 30:70. O consumo e digestibilidade dos nutrientes e o desempenho produtivo (ganho de peso total, ganho médio diário e peso e rendimento de carcaça) dos cordeiros alimentados com óleo essencial de orégano foi semelhante ao dos alimentados com a dieta controle. No entanto, os cordeiros alimentados com extrato taninífero de acácia apresentaram menor consumo de MS (CMS), e redução de 19%, 20% e 50% da digestibilidade aparente total da MS, MO e FDN, respectivamente, em relação aos cordeiros alimentados com a dieta controle. Consequentemente, os cordeiros alimentados com extrato taninífero de acácia apresentaram menor ganho de peso e rendimento de carcaça quente e fria do que os alimentados com a dieta controle. A inclusão de extrato taninífero de acácia reduziu a proporção ruminal de ácido acético e aumentou a concentração de ácido propiônico e o índice mitótico intestinal, em relação aos cordeiros alimentados com as dietas controle e com inclusão de óleo essencial de orégano. Pode-se concluir com o presente estudo que a inclusão de óleo essencial de orégano na dieta de cordeiros em terminação não altera o desempenho produtivo durante o confinamento, enquanto que a utilização de extrato taninífero de acácia reduz o consumo, a digestibilidade dos nutrientes e o desempenho produtivo.

Abstract

The presente study aimed to evaluate the effect of inclusion of oregano essential oil and acacia taniniferous extract in the diet of fed-lot lambs on digestive and blood metabolism and productive performance. Thirty-six male lambs (not-castrated) from crossbreeding Dorper × Santa Inês × Texel, weaned, averring 90 d of age and 27 ± 2.8 kg body weight were used through 53 d of fed-lot period in a randomized block design, were weigh at weaning was the block criteria. The lambs were distributed into three treatments with 12 repetitions. All treatments were based on a regular diet (control), were natural plants extracts were designated to following treatments: 1) control (without additive), 2) control diet + oregano essential oil (1 ml/kg of concentrate), 3) control diet + acacia taniniferous extract (5% DM). Diets were formulated as 30:70 forage:concentrate ratio. The intake and nutrient digestibility and productive performance (total body weight gain, average daily body weight gain and production and carcass yield) of lambs fed oregano essential oil were similar to those fed control diet. However, lambs fed acacia taniniferous extract had lower DM intake (DMI), and reduced by 19%, 20% and 50% the total apparent digestibility of DM, OM and NDF, respectively, compared to lambs fed control diet. Consequently, lambs fed acacia taniniferous extract had lower body weight gain and hot and cold carcass yield than those fed control diet. The inclusion of acacia taniniferous extract in the diet of fed-lot lambs reduced ruminal proportion of acetic acid and increased the ruminal concentration of propionic acid and intestine mitotic index, compared to lambs fed control and oregano essential oil diets. We can conclude that the inclusion of oregano essential oil in the diet of fed-lot lambs does not change productive efficiency, however the inclusion of acacia taniniferous extract reduce nutrient intake and digestibility, as well as productive performance.

2.1 Introdução

Em 2100 o planeta deve chegar a 11,2 bilhões de seres humanos, apresentando um crescimento aproximado de 53% em relação aos dias atuais (ONU, 2015). Tendo em vista esse crescimento populacional exacerbado, é de suma importância que a pecuária encontre alternativas eficientes para conseguir suprir essa crescente demanda por alimentos que está prevista para acontecer nos próximos anos. O aumento da demanda por produtos de origem animal irá desencadear um aumento no número de animais criados e, conseqüentemente, um aumento nas emissões dos gases do efeito estufa originadas pelos ruminantes (ZERVAS; TSIPLAKOU, 2012). O gás metano é um produto natural da fermentação ruminal. A fermentação entérica dos ruminantes é a mais importante fonte de emissões globais de metano, contribuindo com aproximadamente 25% (EPA, 2010). Com isso, surge o crescente desafio de aumentar a produtividade sem prejudicar o meio ambiente.

A produção de metano é uma forma de retirada de íons hidrogênio do rúmen, para que o processo de fermentação ruminal ocorra adequadamente. Durante o processo de fermentação ruminal, ocorre a produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), a principal fonte de energia dos ruminantes. Entre os AGCC mais produzidos no rúmen, podem-se mencionar os ácidos acético, propiônico e butírico. No entanto, nesse processo de fermentação também ocorre a produção de metano, pois quando ocorre a produção de ácidos acético e butírico, há liberação de grandes quantidades de hidrogênio, sendo estes removidos do rúmen através do CH_4 (NASCIMENTO et al., 2016). Os microrganismos metanogênicos utilizam H_2 (ou H^+) e CO_2 para produzir metano. Quando o produto resultante do processo fermentativo é o ácido propiônico, o hidrogênio é retirado do meio, o que reduz a produção de metano e aumenta a eficiência energética e produtiva do animal (WHITELAW et al., 1983).

Modular a fermentação ruminal e aumentar a eficiência de produção, são fatores chaves na redução da produção de metano pelos ruminantes. Para isso, a nutrição animal faz uso de determinadas tecnologias, como aditivos nutricionais. Esses aditivos são uma ferramenta utilizada para melhorar a eficiência da fermentação ruminal. Em termos gerais, aumentar a fermentação consiste em aumentar a produção de ácido propiônico e reduzir a produção de metano e a ação das bactérias proteolíticas, com desaminação em excesso no rúmen das proteínas de alto valor nutritivo que poderiam ser absorvidas no intestino delgado (RIBEIRO, 2014).

Dentre os aditivos nutricionais mais comuns estão os ionóforos, como a monensina sódica. O uso de aditivos químicos, como os ionóforos, melhoram a eficiência produtiva dos animais, no entanto, há alguns problemas com seu uso. Esses aditivos são antibióticos, usados para reduzir a flora de bactérias que produzem metano (bactérias metanogênicas). Estas bactérias, por sua vez, podem adquirir resistência a esses antibióticos, reduzindo a eficiência do produto. Aditivos químicos estão longe de ser a solução ideal para a redução da emissão de gases metano por ruminantes, além de problemas na comercialização destes produtos para a Europa. Desde 2006 a União Europeia proibiu o uso de aditivos ionóforos (antimicrobianos) nas rações de animais de produção, adotando o princípio da precaução na tentativa de minimizar a seleção de bactérias resistentes que poderiam comprometer a biossegurança dos produtos de origem animal para o consumo humano (LOYOLA e PAILE, 2006).

Assim, tornar-se necessário empregar novas estratégias, obter aditivos alternativos. O uso de aditivos naturais, providos de extratos de plantas, como óleos essenciais e extratos taniníferos, surgem como uma alternativa pois são grandes moduladores da fermentação ruminal. Esses extratos provêm de plantas que apresentam substâncias químicas conhecidas como produtos do metabolismo secundário das plantas (produtos naturais), com potencial efeito mitigador de metano entérico, pois interagem com os microrganismos da flora dos ruminantes e podem contribuir significativamente para a redução da produção de metano, inibindo bactérias metanogênicas, aumentando a eficiência produtiva dos animais (OLIVEIRA e IGARASI, 2013).

Em estudos *in vitro* com uso de extratos de plantas tem sido muito promissores (DURMIC et al., 2013, FAGUNDES, 2017; BENETEL, 2018), no entanto, estudos *in vivo* ainda precisam ser desenvolvidos para avaliar como os animais reagem produtivamente com o uso desses extratos. Assim sendo, julgou-se de suma importância avaliar como esses extratos de plantas atuam no desempenho dos animais e na qualidade do produto final. Desta forma, objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito dos aditivos naturais, óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra, na dieta de cordeiros confinados em terminação sobre o desempenho produtivo, variáveis sanguíneas, ruminais e características de carcaça.

2.2 Material e Métodos

O projeto de pesquisa foi desenvolvido na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, campus de Pirassununga. Foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - FZEA/USP (CEUA nº 5804310815).

Previamente ao presente estudo, foram realizados dois experimentos *in vitro*, onde o objetivo foi avaliar o potencial mitigador de metano de 10 extratos taniníferos (FAGUNDES, 2017) e de 10 óleos essenciais (BENETEL, 2018). Com base nos resultados de Fagundes (2017) e Benetel (2018) o extrato taninífero de acácia negra e o óleo essencial de orégano apresentaram maior potencial de mitigação de metano e foram os tratamentos que menos reduziram a degradabilidade da dieta. Desta forma, esses tratamentos foram escolhidos para serem avaliados no presente estudo *in vivo*.

O óleo essencial de orégano e o extrato taninífero de acácia negra foram fornecidos para ovinos confinados em terminação para avaliação do desempenho produtivo e qualidade de carne, descritos nos capítulos I e II.

2.2.1 Animais, manejo e instalações

O experimento foi conduzido no setor de ovinocultura do campus Fernando Costa da Universidade de São Paulo, Pirassununga/SP. Foram utilizados 36 ovinos machos, não castrados, provenientes de cruzamento Dorper x Santa Inês x Texel, desmamados, com aproximadamente 90 dias de idade, e peso vivo inicial médio de $27,22 \pm 2,78$ kg. Os animais foram alojados em baias individuais (1,5 m² aproximadamente) com bebedouro automático e comedouro. As baias foram montadas com estrutura de ferro em um galpão com cortinas laterais que auxiliavam na proteção dos animais tanto para chuvas, quanto sol, quando necessário. Não havia nenhum tipo de ventilação mecânica, apenas a natural. Os animais foram alimentados *ad libitum*, duas vezes ao dia, às 08:00 e às 16:00 horas.

A oferta foi ajustada todos os dias durante o período experimental de maneira a proporcionar sobras diárias de aproximadamente 10%. Como os cordeiros foram providos de uma fazenda comercial, onde os mesmos já estavam confinados, recebendo uma dieta com concentrado, ao iniciar o experimento os animais foram submetidos às dietas de forma abrupta, iniciando o fornecimento dos tratamentos desde o início do experimento, permanecendo com a respectiva dieta até o abate.

Somente os animais que receberam o tratamento tanino foram adaptados. Nos primeiros 14 dias os animais receberam 2,5% de extrato de taninos na dieta total, e posteriormente receberam 5% na dieta total. Tendo em vista que os taninos tem uma característica adstringente, foi realizada essa prévia adaptação para que o tratamento pudesse ser o menos invasivo possível.

Os animais foram pesados quinzenalmente durante todo o período experimental. As pesagens foram realizadas sempre pela manhã, às 08:00 horas, antes do fornecimento da dieta. No início do experimento foi feita a contagem de ovos por grama de fezes (OPG), no caso de contagem acima de 500, os animais foram desverminados. O princípio ativo utilizado foi a doramectina, na dosagem de 1ml para cada 30 kg de peso vivo.

2.2.2 Período experimental, delineamento e dieta

O experimento teve duração total de 53 dias. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, utilizando como critério de bloqueamento o peso ao desmame. Os animais foram distribuídos em três tratamentos, com doze repetições. Todos os tratamentos foram compostos por uma dieta padrão, sendo distintos apenas em relação aos aditivos utilizados: tratamento 1 - dieta controle; tratamento 2 - dieta controle com óleo essencial de orégano (1 ml/kg de concentrado) e tratamento 3 - dieta controle com extrato de taninífero de acácia negra (5% matéria seca da dieta). A dieta foi formulada segundo NRC (1985) com proporção volumoso: concentrado de 30:70 (Tabela 1).

Tabela 1. Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais.

Variáveis	Tratamentos		
	Controle	Óleo essencial de orégano	Extrato taninífero de acácia negra
Ingredientes % MS			
Milho moído	46,57	46,57	46,57
Farelo de soja	15,21	15,21	15,21
Sal comum	0,75	0,75	0,75
Suplemento mineral ¹	2,48	2,48	2,48
Calcário	1,45	1,45	1,45
Óleo de soja	4,14	4,14	4,14
Óleo essencial de orégano ² , ml/kg	-	1	-
Extrato taninífero de acácia negra ³ , %	-	-	5
Silagem de milho	29,41	29,41	29,41
Composição Bromatológica % MS			
MS	56,53	56,53	56,53
MO	92,68	92,68	92,68
MM	7,32	7,32	7,32
PB	14,12	14,12	14,12
EE	6,79	6,79	6,79
FDN	22,26	22,26	22,26
FDA	14,04	14,04	14,04
CT ²	71,77	71,77	71,77
CNF ³	49,51	49,51	49,51
NDT ⁴	77,89	77,89	77,89
Energia líquida, Mcal/kg	1,60	1,60	1,60

¹Suplemento mineral (quantidade de minerais por kg de produto)= fósforo 61 g, cálcio 267 g, enxofre 35 mg, zinco 6000 mg, manganês 2000 mg, cobre 350 mg, cromo 60 mg, ferro 3000 mg, molibdênio 500 mg, magnésio 20 g, iodo 80 mg, cobalto 20 mg, selênio 23 mg, flúor 610 mg; ²Óleo essencial de orégano= ml/kg de concentrado; ³Extrato taninífero de acácia negra= % na MS da dieta, Seta Sun® (Seta, Estância Velha, Rio Grande do Sul), ²CT= Carboidratos totais (Sniffen et al, (1992)); ³CNF= Carboidratos não-fibrosos (Hall (2000)); ⁴NDT= Nutrientes digestíveis totais (Sniffen et al, (1992)); ⁵ELI= Energia líquida de ganho (NRC (1985)).

O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) foi adquirido na empresa Ferquima Industria e Comercio LTDA (Vargem Grande Paulista – SP). O extrato taninífero de acácia negra (*Acacia mearnsii*) utilizado neste experimento foi o produto Seta Sun® da empresa Seta (Estância Velha/RS, Brasil). Esse produto foi sugerido pela empresa, com base em trabalhos científicos já realizados, pois foi o produto que menos reduziu o consumo dos animais testados, em relação aos outros extratos de acácia negra disponíveis para comercialização.

A caracterização química do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Multi Usuário de Bioquímica e Análise Instrumental do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP, através de cromatógrafo gasoso acoplado ao

espectrômetro de massas GC/MS QP2010 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japan), com coluna capilar Difenil Dimetil polissiloxano (5% diphenyl e 95% dimethyl polysiloxane) 30 m x 0,25mm, 0,25 um, modelo Rtx®-5MS (Resteck, Bellefonte, USA). Os compostos voláteis foram identificados através da comparação entre os índices Kovats (IK) calculados e observados em biblioteca da literatura Wiley Library (Version 8) e entre os respectivos espectros de massa. Os maiores picos de área total do cromatograma foram identificados (Tabela 2).

Tabela 2. Identificação e quantificação dos compostos secundários presentes no óleo essencial de orégano.

Óleo essencial de orégano					
Picos	Compostos	Fórmula	TR*	IR**	(%)
1	α -tujeno	C ₁₀ H ₁₆	10,160	950	0,90
2	β -pineno	C ₁₀ H ₁₆	10,414	998	2,79
3	canfeno	C ₁₀ H ₁₆	10,945	1012	0,46
4	α -pineno	C ₁₀ H ₁₆	11,959	1022	0,73
5	mirceno	C ₁₀ H ₁₆	12,424	1037	2,23
6	α -terpineno	C ₁₀ H ₁₆	13,400	1056	0,26
7	p-cimeno	C ₁₀ H ₁₄	13,722	1076	16,05
8	γ -terpineno	C ₁₀ H ₁₆	14,982	1143	6,88
9	linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	16,443	1186	3,09
10	timol	C ₁₀ H ₁₄ O	23,302	1379	4,93
11	carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	32,749	1709	61,68

*TR = Tempo de retenção (minutos); **IR = Índice de retenção. Fonte: Benetel (2018).

As concentrações de compostos fenólicos foram determinadas por método espectrofotométrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu conforme descrito por Makkar (2003). Os taninos totais foram estimados pela diferença na concentração de compostos fenólicos, utilizando o tratamento com PVPP (polivinilpolipirrolidona) insolúvel segundo método descrito por Makkar et al. (1993). O ácido tânico foi utilizado como padrão, tanto para taninos totais, como para compostos fenólicos. As concentrações de taninos condensados foram determinadas pelo método butanol-HCl (MAKKAR, 2003) usando leucocianidina como padrão (Tabela 3).

Tabela 3. Quantificação dos compostos presentes no extrato taninífero de acácia negra.

Variáveis	Extrato taninífero de acácia negra
Compostos fenólicos, eq-g de ácido tânico/kg MS	950
Taninos totais, eq-g de ácido tânico/kg MS	933
Taninos condensado, eq-g leucocianidina/kg MS	351

2.2.3 Análise bromatológica e digestibilidade aparente total

Foram coletadas amostras quinzenais da silagem. Os ingredientes do concentrado foram coletados todas as vezes que foi realizada a pesagem e mistura do concentrado na fábrica de ração da Prefeitura da Campus. As amostras de sobras foram coletadas entre o 39° e 45° dia, diretamente do cocho e congeladas -20°C, sendo compostas após o término do período experimental em uma única amostra por animal para análise bromatológica.

As amostras foram secas em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas, para determinação de matéria seca ao ar (MS_{65°}), e moídas em moinho do tipo Willey em peneira com crivos de 1 mm. Nas amostras pré-secas e moídas, foram determinados os teores de MS a 105°C, matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) de acordo com as metodologias descritas por AOAC (2000). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram baseadas na metodologia descrita por Van Soest et al. (1991), com as adaptações descritas por Mertens (2002), usando α -amilase e sem adição de sulfito de sódio em um sistema similar ao Ankon®. Com base na composição bromatológica dos alimentos e das sobras, foi calculado o consumo de matéria seca e dos nutrientes.

Com base no consumo de matéria seca foi estimada a produção de metano emitida pelos ovinos em terminação, conforme equação descrita por Patra e Lalhriatpuii (2016):

$$CH_4(MJ/d) = 0.506 \times \exp \{0.448 \times DMI(kg/day)\}$$

Para determinação da digestibilidade foi realizada a coleta total de fezes com o auxílio de sacolas coletoras, as quais foram acopladas ao corpo do animal. As coletas foram realizadas durante 5 dias consecutivos, iniciando no 40° dia experimental. Em dois horários durante o dia, às 08:00 e às 16:00 horas, as sacolas foram abertas para retirada das fezes. Em cada horário de abertura, as fezes eram pesadas, sendo amostrados 10% do peso total das fezes. Para avaliação da digestibilidade foram utilizados somente 27 animais, pois não haviam sacolas coletoras suficientes para colocarmos nos 36 animais. Após as coletas, foi realizada uma única amostra composta para realização das análises laboratoriais. As amostras foram secas a 65°C e posteriormente compostas para realização das análises bromatológicas.

2.2.4 Variáveis sanguíneas

A coleta de sangue foi realizada no 38º dia do período experimental, por meio de coleta na veia jugular, antes do fornecimento da dieta, utilizando sistema de coleta a vácuo (Vacutainer®). As amostras foram coletadas em três tubos, sendo um tubo com EDTA para glicemia, um de sorologia sem anticoagulante para as análises bioquímicas, e um tubo com fluoreto, para análise do hemograma. Após a coleta, o material amostrado nos tubos com EDTA e anticoagulante foram centrifugados a 2.000 g por 15 minutos para obtenção do plasma, o qual foi acondicionado em tubos de 2 ml do tipo “Eppendorf®” e congelado a -20°C, para posteriores análises bioquímicas. As amostras contidas nos tubos com fluoreto foram imediatamente encaminhadas para a laboratório para a análise do hemograma.

As variáveis bioquímicas glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL (lipoproteínas de alta densidade), LDL (lipoproteínas de baixa densidade), ureia, albumina, proteína total, creatina quinase (CK), gama glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST) foram determinados por meio de kits comerciais (Randox®) que utilizam métodos colorimétricos enzimáticos ou cinéticos enzimáticos. A leitura foi realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA -200 – CEL®) e em leitora de microplacas (Marca Asys, Modelo Expert Plus – UV).

A determinação do número de hemácias (*He*), do hematócrito (*Ht*), dosagem de hemoglobina (*Hb*), número total de leucócitos, plaquetas e RDW (índice que indica a variação de tamanho de hemácias) foram realizadas no contador automatizado BC-2800 Vet Mindray®. Esse equipamento utiliza o método de impedância para mensuração das hemácias e leucócitos e os métodos colorimétricos para determinação da hemoglobina. O volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) também foram calculados pelo mesmo aparelho que utiliza as equações abaixo para determinação:

$$VCM = \frac{Ht}{He} \times 10$$

$$HCM = \frac{Hb}{He} \times 10$$

$$CHCM = \frac{Hb}{Ht} \times 100$$

2.2.5 Abate dos animais

Ao fim do período experimental, quando atingiram uma média de 40 kg ($42,81 \pm 3,97$ kg), os cordeiros foram transportados por 192 km, onde foram abatidos em abate comercial em São Manuel/SP. Os animais foram submetidos a um jejum hídrico e sólido de 18 horas antes do abate. O abate foi realizado, de acordo com procedimentos humanitários, conforme exigido pela legislação brasileira, seguindo os padrões do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA).

Os cordeiros foram insensibilizados através do atordoamento com pistola pneumática penetrante e imediatamente após a insensibilização foi realizada a sangria pela secção dos grandes vasos do pescoço. Em seguida foi realizada a esfolagem, evisceração e lavagem das carcaças. A desossa dos animais foi realizada apenas 120 horas após o abate (5 dias), em função do abate ter sido realizado na cidade de São Manuel/SP, e as carcaças serem trazidas posteriormente a Pirassununga/SP para a desossa. Entre o abate e a desossa, as carcaças foram mantidas refrigeradas à temperatura de 2°C.

2.2.6 Parâmetros ruminais

As amostras de líquido ruminal foram coletadas no momento do abate dos animais, imediatamente após a evisceração. O líquido coletado foi acondicionado em um tubo Falcon® de 45 ml, homogeneizado e seu valor de pH imediatamente mensurado por meio da leitura em pHmetro digital (pHmetro microprocessador de bancada MODELO W3B - MARCA: BEL Engineering®). Posteriormente, 5 ml de amostra foram adicionados a 2,5 ml de solução de H₂SO₄ 1N e congelados à -20°C, para realização das análises de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) por colorimetria, utilizando kit de uréia enzimática (Bioclin®) segundo método descrito por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977).

A amostragem para ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foi realizada através da coleta de 4 ml de amostra que foram acondicionados em tubo Falcon® com 1 ml de ácido fórmico puro (98-100% P.A ACS) e congelados à -20°C. A análise de AGCC foi

realizada pelo método de cromatografia gasosa (GC-2014: SHIMADZU) utilizando coluna capilar (Stabilwax®, Restek, EUA) a 145°C (isotérmica) e um injetor split/splitless e detector dual FID a 250°C, conforme descrito por Erwin, Marco, Emery (1961), adaptado por Getachew et al. (2002). A análise consiste em utilizar gás hélio como gás de arraste, o ar sintético como comburente e o hidrogênio como combustível. Foi adicionado o padrão interno (ácido 2-etil-butírico 100 mM, Chemservise, USA) às amostras e o padrão externo foi preparado com ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (Chemservice, USA).

Para contagem de protozoário foi realizada a coleta de 5 ml de amostra que foram adicionados a um tubo Falcon® com 10 ml de formol (50%). Posteriormente essas amostras foram analisadas segundo metodologia descrita por Dehority (1977).

2.2.7 Histologia ruminal e intestinal

Foram coletadas amostras do rúmen dos cordeiros, tanto da parte ventral como dorsal. Também foram coletadas amostras do intestino delgado para análise histológica. As amostras foram coletadas imediatamente após a evisceração, alocadas em potes de plástico com álcool 70%.

As amostras ruminais e intestinais foram preparadas em lâminas de 5 cm² de área, fixadas em formalina e processadas rotineiramente para inclusão em parafina. Os blocos de parafina foram seccionados utilizando um Micrótomo manual 4055 (Olympus, Tóquio, Japão) em seções seriais de 5 µm de espessura. Para análise morfométrica, as lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina como descrito por Luna (1968). As imagens foram capturadas usando uma luz microscópio (CX31; Olympus), acoplado a uma câmera (OSIS SC30; Olympus), usando o software Cell-B (Olympus). As análises morfométricas foram realizadas no Software AxioVision 4.8.2–06 / 2010 (Sistemas de Imagens Carl Zeiss, Jena, Alemanha). As medidas tomadas foram a área e altura das papilas ruminais e as vilosidades intestinais e a profundidade das glândulas intestinais.

Para determinar o índice mitótico, 2.000 células da camada basal do epitélio do rúmen foram contadas, incluindo aquelas com núcleos que apresentam figuras (usando o microscópio de luz, 400 x ampliação). O índice mitótico foi calculado como uma razão entre o número de núcleos em divisão e o número total de núcleos (COSTA et al., 2008; AZEVEDO et al., 2013). As células em proliferação em diferentes regiões do intestino

delgado foram determinadas pela contagem dos números mitóticos no epitélio da glândula intestinal, em 10 campos, usando um objetiva e ocular 10 x (ampliação de 400x).

2.2.8 Rendimento das carcaças

As carcaças foram pesadas ainda quentes no abate e após 120 horas, sendo então calculados o rendimento de carcaça quente e o rendimento de carcaça fria.

Para quantificação das variáveis rendimento de carcaça fria e quente, e percentual de perdas por resfriamento foram realizados os seguintes cálculos: peso ao abate (PA) o peso de carcaça quente (PCQ), o rendimento de carcaça quente ($RCQ = PCQ/PA \times 100$), o peso de carcaça fria (PCF), o rendimento de carcaça fria ($RCF = PCF/PA \times 100$) e o percentual de perda ao resfriamento [$PPR = (PCQ - PCF)/PCQ \times 100$].

2.2.9 Temperatura, pH, área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EGS)

A medidas foram realizadas apenas na desossa (120 horas após abate) onde foi retirado todo o lombo da meia carcaça esquerda (músculo *Longissimus dorsi*), e nele foram realizadas as medições da temperatura e pH utilizando um termômetro e peagâmetro digital (modelo HI8314, Hanna Instruments) com sondas de penetração. As medidas de AOL e EGS foram realizadas utilizando uma grade reticulada, com medida em centímetros quadrados (cm²) para AOL e milímetros (mm) para EGS. Foi retirado o lombo, devido a desossa ser realizada em local comercial, não havendo disponibilidade para intervenção na rotina do sistema de trabalho da empresa.

2.2.10 Análise estatística

Os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System® (SAS, 2001), em delineamento de blocos inteiramente casualizados. Após verificação da normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias, o procedimento estatístico adotado foi de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-MIXED do SAS (versão 9.0), adotando-se nível de significância de 5%, de acordo com o seguinte modelo:

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

em que Y_{ij} = é o valor observado; μ = média geral; T_i = efeito fixo de tratamento i , $i = 1$ a 4; B_j = efeito aleatório do bloco (animal) j , $j = 1$ a 3; e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação. Os graus de liberdade foram calculados de acordo com o método Satterthwaite (DDFM = Satterth). As médias ajustadas foram obtidas e comparadas ($\alpha = 0,5$) pela opção DIFF do “statement” LSMEANS do SAS (2001).

2.3 Resultados

A inclusão de aditivos naturais, óleo de orégano e extrato taninífero de acácia negra, na dieta de cordeiros em terminação não alterou as variáveis peso final e conversão alimentar (Tabela 4). No entanto, o extrato taninífero reduziu o ganho de peso ($P=0,0496$) e ganho médio diário ($P=0,0495$), quando comparo ao tratamento controle. O tratamento controle foi semelhante ao óleo de orégano. Porém, quando os aditivos foram comparados entre si, não apresentaram diferença, evidenciando desempenho produtivo semelhante.

Tabela 4. Desempenho de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo essencial de orégano	Extrato taninífero de acácia negra		
PI ¹ , kg	27,141	27,391	27,150	0,5615	0,9078
PF ² , kg	44,583	42,671	41,667	0,8088	0,1377
GP ³ , kg	17,442 ^a	15,290 ^{ab}	14,517 ^b	0,5245	0,0496
GMD ⁴ , kg	0,329 ^a	0,288 ^{ab}	0,274 ^b	0,0098	0,0495
CA ⁵ , kg/kg	5,109	5,323	5,398	0,2014	0,8256

¹PI= Peso inicial; ²PF= Peso final; ³GP= Ganho de peso; ⁴GMD= Ganho médio diário;

⁵CA= Conversão alimentar; *EPM= Erro padrão da média.

Não houve efeito da inclusão dos aditivos naturais no consumo em percentual de peso vivo, consumo da matéria seca e nutrientes, e a digestibilidade do extrato etéreo (Tabela 5). Porém, os cordeiros alimentados com inclusão de extrato taninífero na dieta apresentaram menor digestibilidade da matéria seca ($P=0,0003$), matéria orgânica ($P=0,0001$), fibra em detergente neutro ($P=0,0001$) e proteína bruta ($P=0,0002$) do que aqueles alimentados com a dieta controle e com inclusão de óleo de orégano. Não houve diferença de digestibilidade aparente total entre os animais alimentados com a dieta. A produção de metano estimada com base no consumo de matéria seca (MJ/d) também não

apresentou diferença. No entanto, houve uma tendência ($P=0,076$) de redução da produção de metano pelo ovinos do tratamento extrato taninífero de acácia negra, com menor emissão de metano (0,9698 MJ/d).

Tabela 5. Consumo, digestibilidade da matéria seca e nutrientes da dieta e estimativa de emissão de metano de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo essencial de orégano	Extrato taninífero de acácia negra		
CPV ¹ , %	3,9013	3,6941	3,4874	0,1136	0,3373
CMS ² , kg	1,7484	1,6239	1,4354	0,0577	0,0798
CMO ³ , kg	1,6201	1,5051	1,3311	0,0535	0,0812
CFDN ⁴ , kg	0,3776	0,3525	0,3092	0,0133	0,1036
CEE ⁵ , kg	0,1213	0,1117	0,0995	0,0039	0,0697
CPB ⁶ , kg	0,2493	0,2320	0,2055	0,0080	0,0787
CDMS ⁷ , %	77,6235 ^a	76,2095 ^a	65,1499 ^b	1,5547	0,0003
CDMO ⁸ , %	79,3342 ^a	77,8640 ^a	65,8204 ^b	1,6065	0,0001
CDFDN ⁹ , %	51,4117 ^a	48,8479 ^a	25,5699 ^b	2,9550	0,0001
CDEE ¹⁰ , %	96,7409	96,7162	97,0867	0,1677	0,6204
CDPB ¹¹ , %	77,2128 ^a	76,0006 ^a	64,5833 ^b	1,5550	0,0002
CH ₄ , MJ/d ¹²	1,1199	1,0585	0,9698	0,0273	0,0761

¹% CPV= Consumo em percentual de peso vivo; ²CMS= Consumo de matéria seca; ³CMO= Consumo de matéria orgânica; ⁴CFDN= Consumo de fibra em detergente neutro; ⁵CEE= Consumo de extrato etéreo; ⁶CPB= Consumo de proteína bruta; ⁷CDMS= Coeficiente de digestibilidade da matéria seca; ⁸CDMO= Coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica; ⁹CDFDN= Coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro; ¹⁰CDEE= Coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo; ¹¹CDPB= Coeficiente de digestibilidade da proteína bruta; ¹²CH₄, MJ/d = Produção de metano estimada com base no consumo de matéria seca (PATRA e LALHRIATPUII, 2016); *EPM= Erro padrão da média.

Não houve efeito da inclusão de óleo de orégano e extrato taninífero sobre os teores plasmáticos de creatinina, HDL, VLDL, triglicerídeos, proteína, albumina, AST, GGT e CK (Tabela 6). Houve uma tendência ($P=0,0743$) na redução da glicose e ($P=0,0854$) colesterol e no tratamento extrato taninífero, e uma redução ($P=0,0878$) da proteína no tratamento óleo essencial de orégano. Para as variáveis ureia ($P=0,0209$), nitrogênio ureico ($P=0,0208$) e LDL ($P=0,0239$) houve diferença, onde o tratamento controle apresentou maiores médias, semelhante ao óleo de orégano, e diferindo-se do extrato taninífero. Porém, os aditivos naturais não apresentaram diferença entre si.

Tabela 6. Bioquímica sanguínea de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor	VR ⁹
	Controle	Óleo de orégano	Extrato de acácia negra			
Glicose, mg/dL	86,998	81,490	79,982	1,3318	0,0743	50-80
Ureia, mg/dL	38,400 ^a	34,630 ^{ab}	29,421 ^b	1,3882	0,0209	17-42
N-ureico ¹ , mg/dL	17,923 ^a	16,162 ^{ab}	13,729 ^b	0,6480	0,0208	-
Creatinina, mg/dL	0,758	0,807	0,843	0,0247	0,3820	1,2-1,9
Colesterol, mg/dL	56,879	51,127	48,842	2,0270	0,0854	52-76
LDL ² , mg/dL	23,181 ^a	19,154 ^{ab}	14,946 ^b	1,3235	0,0239	-
HDL ³ , mg/dL	27,959	25,594	27,214	0,9110	0,5088	-
VLDL ⁴ , mg/dL	8,711	7,552	8,509	0,3014	0,2197	-
Trigliceris ⁵ , mg/dL	43,554	37,763	42,542	1,5075	0,2202	-
Proteína, g/dL	6,323	6,112	6,434	0,0618	0,0878	6-7,9
Albumina, g/dL	3,033	3,041	3,034	0,0178	0,9814	2,4-3
GGT ⁶ , U/L	54,417	55,417	51,083	2,7247	0,7942	20-52
AST ⁷ , U/L	113,51	120,08	107,51	3,0290	0,1336	60-280
CK ⁸ , U/L	145,10	121,59	129,65	5,8236	0,2525	-

¹N-ureico= Nitrogênio ureico; ²LDL= Lipoproteínas de baixa densidade; ³HDL= Lipoproteínas de alta densidade; ⁴VLDL= Lipoproteínas de muito baixa densidade; ⁵Trigliceris= Triglicerídeos; ⁶GGT= Gama glutamil transferase; ⁷AST= Aspartato aminotransferase; ⁸CK= Creatina quinase; ⁹VR= Valores de Referência (KANEKO, HARVEY e BRUSS, 1997; MEYER e HARVEY, 2004); *EPM= Erro padrão da média.

A inclusão de óleo essencial de orégano ou extrato taninífero na dieta não alterou o hemograma de cordeiros em confinados (Tabela 7). Neste exame é possível observar que os aditivos naturais não apresentam diferença significativa para as variáveis analisadas. Dentre elas, podem-se observar o número total de leucócitos, hemácias, plaquetas, dosagem de hemoglobina, concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hematócrito, índice que indica a variação de tamanho de hemácias (RDW), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

Tabela 7. Hemograma de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor	VR ¹⁰
	Controle	Óleo de orégano	Extrato de acácia negra			
Leuc ¹ , μL	8,882	7,450	8,888	0,3385	0,1572	9-15
Hem ² , $\times 10^6/\mu\text{L}$	12,679	12,793	13,139	0,1801	0,5053	9-14
Plaq ³ , $\times 10^3/\mu\text{L}$	564,36	477,73	487,92	23,783	0,2827	196-1311
Hgb ⁴ , g/dL	11,951	12,292	12,203	0,1713	0,5985	8-16
CHCM ⁵ , g/dL	33,049	33,483	33,543	0,1315	0,2326	27,5-32,6
Hct ⁶ , %	35,633	36,675	37,387	0,5296	0,3406	24-50
RDW ⁷ , %	17,841	17,908	18,050	0,1314	0,8128	15,6-20,2
VCM ⁸ , f/L	28,950	28,758	28,508	0,2424	0,7738	23-48
HCM ⁹ , pg	9,664	9,567	9,483	0,0785	0,6623	8,2-10,5

¹Leuc= Leucócitos totais; ²Hem= Hemácias; ³Plaq= Plaquetas; ⁴Hgb= Hemoglobina; ⁵CHCM= Concentração de hemoglobina corpuscular média; ⁶Hct= Hematócrito; ⁷RDW= Índice que indica a variação de tamanho de hemácias; ⁸VCM= Volume corpuscular médio; ⁹HCM= Hemoglobina corpuscular média; ¹⁰VR= Valores de Referência (JAIN, 1993); MEYER e HARVEY, 2004; LIMA et al., 2015); *EPM= Erro padrão da média.

Não houve efeito da inclusão de óleo essencial de orégano ou extrato taninífero sobre o pH ruminal, concentração de ácido acético, butírico, iso-butírico, valérico, iso-valérico, total de AGCC e a relação acetato propionato, assim como, a proporção molar de ácido propiônico, butírico, valérico, iso-valérico e a concentração de nitrogênio amoniacal (Tabela 8). Houve uma tendência ($P=0,0550$) de aumento da concentração do ácido propiônico no tratamento extrato taninífero de acácia negra. No entanto, houve diferença significativa na proporção molar de ácido acético ($P=0,0001$), onde o tratamento extrato taninífero apresentou menor proporção, diferenciando-se do tratamento controle e óleo de orégano, os quais foram semelhantes entre si. Na proporção do ácido iso-butírico ($P=0,0171$) houve diferença entre os tratamentos, sendo o extrato taninífero e o controle semelhantes, apresentando menores proporções que o tratamento óleo de orégano.

Tabela 8. Variáveis ruminiais de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo essencial de orégano	Extrato taninífero de acácia negra		
Concentração, mM					
Acético	39,604	36,090	31,936	2,0420	0,3110
Propiônico	15,067	14,205	18,916	0,8753	0,0550
Butírico	6,2131	6,5494	6,8561	0,4277	0,8399
Iso-butírico	1,2420	1,5223	1,3542	0,0535	0,1002
Valérico	1,1602	1,0931	1,3050	0,0666	0,4282
Iso-valérico	3,1353	3,2354	2,8803	0,2233	0,8265
Total de AGCC	59,987	64,876	65,192	2,9613	0,7441
Acet:prop ¹	2,2120	2,1631	1,7094	0,1087	0,1087
Proporção molar, %					
Acético	55,923 ^a	55,504 ^a	48,901 ^b	0,8036	0,0001
Propiônico	25,989	27,239	29,497	0,9733	0,3482
Butírico	10,105	10,278	11,225	0,4436	0,5585
Iso-butírico	2,0601 ^b	2,3881 ^a	2,0810 ^b	0,0554	0,0171
Valérico	1,8712	1,8701	2,0280	0,0690	0,5785
Iso-valérico	4,8274	4,7360	6,1791	0,3219	0,1305
N-NH ₃ , mg/dL	23,858	25,131	19,441	1,3220	0,1783
pH	6,9944	6,8884	6,9110	0,0405	0,5437

¹Acet:prop= Relação acetato propionato; ²CH₄= Gás metano; *EPM= Erro padrão da média.

Na população de protozoários não puderam ser identificados os gêneros *Dasytricha* e *Isotricha* (Tabela 9). Possivelmente pelo fato do líquido ruminal ter sido coletado somente no abate, após um jejum de 18 horas, pode ter ocorrido alteração da flora ruminal, não apresentando diferença significativa para esta variável. No entanto, os gêneros *Entodinium* e *Diplodiniinae* foram identificados e quantificados, apresentando diferença significativa no número de protozoários de *Entodinium* (P=0,0364) e no número total de protozoários (P=0,0374), onde o tratamento óleo essencial de orégano apresentou as maiores médias, diferindo apenas do tratamento controle. O extrato taninífero de acácia negra foi semelhante a ambos tratamentos, controle e óleo de orégano. O gênero *Diplodiniinae* não apresentou diferença entre os tratamentos.

Tabela 9. População de protozoários de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo essencial de orégano	Extrato taninífero de acácia negra		
Número de Protozoários x 10 ³ /mL					
<i>Dasytricha</i>	NI	NI	NI	-	-
<i>Isotricha</i>	NI	NI	NI	-	-
<i>Entodinium</i>	125,40 ^b	460,60 ^a	307,20 ^{ab}	52,384	0,0364
<i>Diplodiniinae</i>	0,1258	0,4456	0,9156	0,1361	0,0586
Total	125,85 ^b	462,10 ^a	312,44 ^{ab}	52,695	0,0124
Protozoários, %					
<i>Dasytricha</i>	NI	NI	NI	-	-
<i>Isotricha</i>	NI	NI	NI	-	-
<i>Entodinium</i>	99,990 ^a	99,840 ^{ab}	99,639 ^b	0,0556	0,0205
<i>Diplodiniinae</i>	0.0099 ^b	0.1599 ^{ab}	0.3613 ^a	0,0556	0,0205

*EPM= Erro padrão da média; NI= Não identificado.

O percentual de protozoários também apresentou diferença significativa para os gêneros *Entodinium* (P=0,0205) e *Diplodiniinae* (P=0,0205), onde o percentual de *Entodinium* foi maior para todos os tratamentos, apenas em diferentes proporções. O tratamento controle apresentou a maior percentual de *Entodinium*, diferenciando-se do tratamento extrato taninífero de acácia negra, com a menor percentual. Já o tratamento óleo essencial de orégano foi semelhante a ambos tratamentos. Para o gênero *Diplodiniinae* ocorreu o oposto, a maior percentual foi no tratamento extrato taninífero de acácia negra, diferindo do tratamento controle, com o menor percentual. O óleo essencial de orégano novamente foi semelhante a ambos os tratamentos.

Os aditivos naturais não alteraram a histologia na cavidade ruminal, altura, área e índice mitótico (Tabela 10). A histologia da cavidade intestinal, altura e área, também não apresentaram diferença entre os tratamentos. No entanto, para as variáveis profundidade da glândula intestinal (P=0,0017) índice mitótico do duodeno (P=0,0001) apresentaram diferença entre os tratamentos. A profundidade da glândula intestinal do duodeno foi maior para os tratamentos controle e extrato taninífero de acácia negra, diferindo do óleo essencial de orégano, com menor média. O índice mitótico do duodeno foi maior para o tratamento extrato taninífero de acácia negra, diferenciando-se do tratamento controle e óleo essencial de orégano, que foram semelhantes entre si.

Tabela 10. Histologia da cavidade ruminal e duodenal de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo de orégano	Extrato de acácia negra		
Altura, mm					
Papila ruminal	2,4380	2,1342	2,3060	0,1387	0,6727
Vilosidade do duodeno	0,4955	0,5236	0,5198	0,0112	0,5569
Área, mm ²					
Papila ruminal	3004,40	2589,27	2703,19	161,03	0,5768
Vilosidade do duodeno	167,31	164,62	191,30	6,3573	0,1750
Profundidade da glândula intestinal, mm					
Duodeno	0,5287 ^a	0,4427 ^b	0,5670 ^a	0,0159	0,0017
Índice Mitótico, %					
Rúmen	0,8833	0,7124	0,6661	0,0400	0,0578
Duodeno	11,768 ^b	10,812 ^b	16,909 ^a	0,9192	0,0001
Peso rúmen cheio, kg	4,2275 ^{ab}	3,9880 ^b	4,8517 ^a	0,1458	0,0298
Peso rúmen vazio, kg	0,7453	0,7167	0,7850	0,0204	0,3891
Conteúdo ruminal, kg	3,4283 ^b	3,2524 ^b	4,0667 ^a	0,1363	0,0253

*EPM= Erro padrão da média.

O peso o rúmen vazio não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. No entanto, o peso do rúmen cheio ($P=0,0298$) e o peso do conteúdo ruminal ($P=0,0253$) apresentaram diferença entre os tratamentos. O tratamento extrato taninífero de acácia negra apresentou o maior peso de rúmen cheio, diferindo do óleo essencial de orégano. O tratamento controle foi semelhante a ambos. O peso do conteúdo ruminal foi maior para o tratamentos extrato taninífero de acácia negra, diferenciando-se dos tratamentos controle e óleo essencial de orégano.

As variáveis EGS (espessura de gordura subcutânea), pH e temperatura não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 11). Para as variáveis peso da carcaça quente ($P=0,0369$) e fria ($P=0,0152$), o tratamento controle apresentou os maiores pesos, sendo semelhante ao óleo de orégano, e deferindo-se do extrato taninífero. No entanto, os aditivos não apresentaram diferença entre si.

Tabela 11. Rendimento e características de carcaça de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo essencial de orégano	Extrato taninífero de acácia negra		
PCQ ¹ , kg	20,434 ^a	19,104 ^{ab}	18,125 ^b	0,4406	0,0369
PCF ² , kg	20,333 ^a	18,833 ^{ab}	17,911 ^b	0,4327	0,0152
RCQ ³ , %	45,801 ^a	45,375 ^a	42,917 ^b	0,3700	0,0014
RQF ⁴ , %	45,086 ^a	44,751 ^a	42,447 ^b	0,3431	0,0015
PPR ⁵ , %	1,287 ^a	1,034 ^b	0,924 ^b	0,0685	0,0126
EGS, mm	6,584	6,378	5,954	0,2452	0,5091
AOL, cm ²	7,317	7,192	7,100	0,1448	0,8278
pH, 120 h	6,074	5,985	5,915	0,0347	0,1582
T°C ⁶ , 120 h	2,479	2,545	2,445	0,0976	0,8936

¹PCQ= Peso carcaça quente; ²PCF= Peso carcaça fria; ³RCQ= Rendimento carcaça quente; ⁴RQF= Rendimento carcaça quente; ⁵PPR= Perdas por resfriamento; ⁶T°C= temperatura; *EPM= Erro padrão da média.

No rendimento da carcaça quente (P=0,0014) e fria (P=0,0015), o tratamento extrato taninífero apresentou um menor rendimento, diferenciando-se do tratamento controle e do óleo de orégano, que apresentaram rendimentos semelhantes. Houve diferença significativa para a variável perdas por resfriamento (P=0,0126), onde o tratamento controle apresentou maiores perdas, diferenciando-se dos tratamentos com aditivos. O óleo de orégano e o extrato taninífero foram semelhantes, diferindo do tratamento controle, com menores perdas por resfriamento.

2.4 Discussão

O desempenho produtivo (ganho de peso total, ganho médio diário e peso e rendimento de carcaça) dos cordeiros alimentados com óleo essencial de orégano foi semelhante ao dos alimentados com a dieta controle. No entanto, os cordeiros alimentados com extrato taninífero de acácia apresentaram menor ganho de peso e rendimento de carcaça do que os alimentados com a dieta controle. Estes resultados sugerem que apesar destes extratos naturais estarem sendo estudados e utilizados como estratégia para otimizar a fermentação ruminal e mitigar a emissão de metano entérico (SIMITZIS et al., 2008; KOZLOSKI et al., 2012; PARASKEVAKIS, 2015), no presente estudo eles não melhoraram o desempenho produtivo dos cordeiros confinados. Adicionalmente, a inclusão de extrato taninífero de acácia negra na dieta de cordeiros confinados reduziu o desempenho produtivo, provavelmente devido a redução da digestibilidade aparente total

da MS, MO, FDN e PB e da tendência de redução do CMS. A digestibilidade aparente total da MS e da MO reduziu em 16% e 17%, respectivamente, com a inclusão de extrato taninífero de acácia negra.

A maneira pela qual os taninos reduzem a digestibilidade ainda não é clara (KOZLOSKI, et al., 2012). No entanto, já está bem estabelecido que eles podem diminuir a degradação ruminal da proteína (REED, 1995; HERVAS et al., 2000) e fibra (REED, 1995; MCSWEENEY et al., 2001) formando complexos indigestíveis com estes nutrientes ou com enzimas microbianas (MCALLISTER et al., 1994; MCSWEENEY et al., 2001). A inclusão de extrato taninífero de acácia não alterou o comprimento das papilas ruinais e das vilosidades intestinais, mas aumentou o peso do rúmen cheio e o peso da digesta, indicando que pode ter ocorrido menor taxa de passagem, uma vez que o CMS foi menor com a inclusão e extrato taninífero de acácia. Ou seja, não houve aumento da entrada de alimentos que pudesse justificar o aumento do peso do conteúdo ruminal. Os extratos taniníferos podem reduzir a fixação dos microrganismos ruminais nas partículas de alimentos, o que pode resultar em menor taxa de degradação e, consequentemente, menor fluxo ruminal dos alimentos (CHIQUELLE et al., 1988; MCALLISTER et al., 1994).

Os aditivos naturais, o óleo de orégano e o extrato taninífero, não apresentaram problemas à saúde de cordeiros confinados em terminação, pois conforme a análise de bioquímica sanguínea e hemograma, os dados do presente estudo estão condizentes com a literatura, estando dentro da normalidade (JAIN, 1993; MEYER e HARVEY, 2004; LIMA et al., 2015). No entanto, o extrato taninífero modificou o metabolismo proteico dos ovinos, reduziu em 23% a quantidade de ureia sanguínea (mg/dL) e 23% a quantidade de nitrogênio ureico (mg/dL) quando comparado ao tratamento controle. Houve uma tendência na redução do consumo de PB e uma redução significativa de 17% da digestibilidade de PB neste tratamento. A ureia é um metabólito produzido no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia no fígado. Os níveis de ureia irão variar de acordo com o nível de proteína da dieta e do funcionamento renal. Em ruminantes, os níveis de uréia sanguínea são afetados pelo nível nutricional, sendo a ureia um indicador sensível e imediato da ingestão de proteínas (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

Ainda no contexto dos indicadores do metabolismo sanguíneo proteico, o óleo essencial de orégano apresentou uma tendência ($P=0,0878$) na redução da concentração de proteína no sangue. Em concordância com esse dado, a profundidade do duodeno

(porção ativa de digestão e absorção) também foi menor no tratamento óleo essencial de orégano. Com o menor desenvolvimento da glândula intestinal, houve uma redução da absorção das proteínas endógenas, reduzindo a disponibilidade das mesmas no sangue. No entanto, com a inclusão de extrato taninífero houve o oposto. A concentração de proteína sanguínea foi maior, e o índice mitótico do duodeno também. Os taninos ligam-se às proteínas da dieta formando complexos (tanino-proteína), fazendo com que as proteínas de maior valor biológico não sejam degradadas e utilizadas pela microbiota ruminal, sendo estes complexos dissociados no intestino delgado, local de absorção dos aminoácidos (MIN, 2003; WAGHORN, 2008).

O extrato taninífero tendeu a reduzir em 8% a glicose sanguínea (mg/dL), modificando o metabolismo energético dos cordeiros, possivelmente pela tendência na redução do consumo de matéria seca e matéria orgânica, e pela redução da digestibilidade da MS e MO, em comparação aos animais alimentados com a dieta controle. Com a inclusão de extrato taninífero de acácia na dieta de cordeiros confinados, houve tendência de redução do colesterol sanguíneo, bem como redução da concentração sanguínea de LDL em 35%, em relação aos animais alimentados com a dieta controle.

O LDL transporta o colesterol do fígado até às células dos tecidos e favorece o seu acúmulo nas paredes internas das artérias, diminuindo o fluxo do sangue, estando relacionado com o indicativo de uma série de doenças. A ação do extrato taninífero sobre o LDL é através dos flavonoides. A ingestão de flavonoides está associada à longevidade e à redução na incidência de doenças cardiovasculares (ARAÚJO, 2008). Os taninos são polímeros de flavonoides (MUIR, 2011). Estes flavonoides apresentam ação anti-inflamatória, anti-hemorrágica e auxiliam na absorção da vitamina C. Entretanto, o efeito mais importante é a propriedade antioxidante. Dentre seus benefícios destacam-se ainda a redução na incidência de certos tipos de câncer, redução do colesterol sérico e estimulação do sistema imunológico (COZZOLINO, 2009).

A estimativa da emissão de metano pelos ovinos tendeu a uma redução de 8% para os cordeiros alimentados com óleo essencial de orégano e 13% para os alimentados com extrato taninífero de acácia negra, em relação aos alimentados com a dieta controle. Conforme Patra e Lalhriatpuii (2016) a produção de metano no rúmen depende de fatores dietéticos, funções do rúmen, dinâmica de fermentação, e assim pode não seguir uma tendência linear em uma ampla gama de valores. Assim, através de inúmeras pesquisas houve o desenvolvimento de equações de predição de metano, onde as estimativas pela

ingestão de MS ($R^2 = 0,75$) demonstram confiabilidade nos resultados (PATRA e LALHRIATPUII, 2016)

Conforme estudo *in vitro* realizado por Bueno et al. (2015) pequenos ruminantes (ovinos e caprinos) não apresentaram diferença na produção de metano entre si. Os pequenos ruminantes emitem, naturalmente, menos metano por serem seletores de concentrado. A média estimada de emissão de gás metano encontrada no presente estudo foi similar a média obtida por Lima et al (2016) utilizando o método de gás traçador SF_6 em cabras. Carulla et al. (2005) observaram redução na emissão de metano (cerca de 13%) quando utilizaram 41 g/kg MS da dieta de *Acacia mearnsii* para ovelhas, redução essa semelhante ao presente estudo.

Apesar de ser apenas uma estimativa, esse resultado da produção de metano está condizente com os demais resultados encontrados neste trabalho, como digestibilidade da FDN e concentração ou proporção dos ácidos acético e propiônico. O coeficiente de digestibilidade do FDN reduziu 50% para os cordeiros alimentados com a dieta com extrato taninífero de acácia e 5% para os alimentados com a dieta com óleo essencial de orégano, em relação aos alimentados com a dieta controle. A produção ruminal de metano ocorre com o objetivo de eliminar o H_2 e reduzir a acidificação ruminal. O gás carbono (CO_2) é utilizado pelos microrganismos metanogênicos (arqueas e protozoários), formando o gás metano e água (CH_4 : $4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$). Alternativamente, o H_2 e o CO_2 poderiam ser utilizados para produção de ácido propiônico, aumentando a eficiência energética da fermentação ruminal. Portanto, quanto menor for a produção de H_2 e CH_4 maiores são os substratos para produção de AGCC e de energia metabolizável para os ruminantes (BUDDLE et al., 2011), desde que o CMS não seja reduzido.

Com a inclusão de extrato taninífero de acácio na dieta de cordeiros em confinamento, houve tendência de aumento da concentração ruminal do ácido propiônico em 20%, assim como, houve redução de 12% do percentual de ácido acético, em relação ao tratamento controle. A redução da proporção de ácido acético com a inclusão de extrato taninífero de acácia pode estar associada a menor digestibilidade da FDN, uma vez que é o principal precursor para produção deste AGCC. Apesar da coleta do líquido ruminal ter ocorrido 18 horas após a de jejum, foi possível observar os efeitos da inclusão de extrato taninífero de acácia sobre a produção dos AGCC. Os cordeiros alimentados com a dieta com óleo essencial de orégano não alteraram a concentração e proporção dos ácidos acético, propiônico e butírico, em relação aos alimentados com a dieta controle. No entanto, a inclusão de óleo essencial de orégano aumentou em 16% o percentual do

ácido iso-butírico, em relação ao controle. O iso-butírico é um iso ácido que é originário da degradação ruminal de proteínas, e sua produção está associada com a taxa de desaminação realizada pelos microrganismos (ANDRIES, et al., 1987), indicando que o óleo essencial de orégano pode ter aumentado a desaminação de aminoácidos no rúmen. Isso acarretou na menor absorção de aminoácidos no intestino e menor concentração de proteína no sangue.

A população de protozoários, mesmo após tantas horas em jejum, pode ser observada. Pelo fato da dieta conter 70% de concentrado, o gênero *Entodinium* tem maior população do que o gênero *Diplodiniinae*. A predominância do gênero *Entodinium* coincide com as observações de Martinele et al. (2008), que investigaram ciliados em vacas Holandesas sob dieta rica em silagem de milho e concentrado com adição de monensina ou óleo de soja. Tendo em vista que o óleo essencial de orégano apresenta um mecanismo de ação muito semelhante ao da monensina, os dados do presente estudo corroboram com a literatura, onde o óleo essencial aumentou 267% o número de protozoários do gênero *Entodinium*, e em relação ao controle, e 48% em relação ao extrato taninífero. Já os protozoários do gênero *Diplodiniinae*, são considerados principalmente microrganismos celulolíticos (BOHATIER, 1991). Assim, seu maior percentual foi no tratamento extrato taninífero, o qual, também teve o maior peso da digesta, indicando maior tempo do alimento do rúmen, beneficiando a multiplicação deste gênero *Diplodiniinae*, para este tratamento.

A inclusão de óleo essencial de orégano não alterou o desempenho produtivo e rendimento de carcaça de cordeiros confinados. Resultados semelhantes foram observados por Smitzis et al. (2008) e Paraskevakis (2015), uma vez que eles não observaram efeito da inclusão de óleo essencial de orégano (em doses semelhantes ao presente estudo) sobre o desempenho produtivo de cordeiros confinados. Já o extrato taninífero teve os piores resultados de desempenho produtivo e rendimento de carcaça de cordeiros, em relação ao tratamento controle.

O ponto mais importante no uso de extratos taniníferos na dieta de ruminantes é a quantidade fornecida aos animais. Min et al. (2003) descreve que doses de taninos condensados entre 20 a 45 g/kg de MS da dieta podem produzir efeitos benéficos, enquanto qualidades superiores a 55 g/kg MS seriam responsáveis por prejuízos ao metabolismo animal. No presente estudo, o consumo médio de taninos condensados foi 25 g/kg MS, onde houve efeitos benéficos como redução de metano e melhora na saúde

dos cordeiros, porém, também houve redução do desempenho produtivo e rendimento de carcaça.

Kozloski et al.(2012) relata que a análise química de fenol total (FT), taninos totais (TT) e taninos condensados (TC) podem apresentar uma grande variação para o extrato taninífero de acácia negra (*Acacia mearnsii*). Ahmed et al. (2005) e Minho et al. (2010) reportaram valores semelhantes a Kozloski et al.(2012) onde a concentração de FT foi de 716, TT de 694 e CT de 156 g/kg de MS, respectivamente. De outra forma, Carulla et al. (2005) e Grainger et al. (2009) descreveram concentrações mais elevadas de TC de 615 e 603 g/kg de MS. No presente estudo, a concentração de FT foi de 950, TT foi de 933, e TC de 351 g/kg de MS. Assim, pode-se observar que há uma ampla variação dos resultados químicos do extrato de *Acacia mearnsii*, evidenciando diferenças no método de análise e padrões utilizados, principalmente quando ao teor de TC, que varia muito entre os estudos, dificultando a idealização de teores limitantes, havendo assim a necessidade de avaliar os estudos individualmente.

No presente estudo os cordeiros alimentados com 5% de extrato taninífero de acácia negra consumiram uma média de 72 g/kg MS de extrato taninífero de acácia negra, ocasionando desempenho produtivo abaixo do tratamento controle, no entanto, semelhante ao óleo essencial de orégano. Esses dados estão em concordância com Aerts, Barry e McNabb (1999) que afirma que se ingerido em alta quantidade, ou seja, extrato acima de 60 g/kg MS da dieta, pode ocasionar efeito depressivo sobre o consumo voluntário e redução na eficiência do processo digestivo e na produtividade de ruminantes, primeiramente devido à sua adstringência e ainda pela elevada de complexação do substrato disponível para fermentação. Kosloski et al. (2012) também reporta redução de consumo e digestibilidade de ovinos fistulados a partir de 40 g/kg de MS de extrato taninífero de acácia negra.

Gerlach, Priesb e Südekuma (2018) descreve sobre a inclusão de 76 g/kg de MS de *Acacia mearnsii* como um forte efeito redutor na digestibilidade de nutrientes, diminuindo a emissão de metano possivelmente pela redução da digestibilidade do trato total. O mesmo autor ainda menciona que a concentração de TC da *Acacia mearnsii* é muito variável (mesmo para o mesmo produto) e foi muito inferior ao indicado pela literatura, sendo de extrema importância a realização de análises químicas dos extratos utilizados antes do uso em pesquisa ou na alimentação em fazendas, pela diversidade de resultados encontrados para o mesmo extrato taninífero na literatura.

2.5 Conclusão

Os aditivos naturais, óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra, apresentam diferentes modos de ação e consequentemente de resultados. O óleo essencial de orégano (1ml/kg de concentrado) não altera parâmetros produtivos e de saúde dos cordeiros, e ainda, reduz 8% as emissões de metano. A inclusão de 5% de extrato taninífero de acácia negra reduz os parâmetros produtivos, consumo e digestibilidade, no entanto, melhora a saúde dos cordeiros, reduz a concentração de LDL em 35% e 13% as emissões de metano de cordeiros confinados em terminação em relação ao tratamento controle.

Referência bibliográficas

AERTS, R. J. et al. Condensed tannins from *Lotus corniculatus* and *Lotus pedunculatus* effect the degradation of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase (*Rubisco*) protein in the rumen differently. **Journal Science of Food Agriculture**, v. 79, p. 79–85, 1999.

AHMED, M. et al. Comparative study of tannins of *Acacia nilotica* an indigenous tanning material in Sudan with *Acacia mearnsii*. **Suranaree Journal of Science and Technology**, v. 12, p. 259–265, 2005.

ANDRIES, J. I. et al. Isoacids in Ruminant Nutrition: Their Role in Ruminal and Intermediary Metabolism and Possible Influences on Performances - A Review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 18, p. 169-180, 1987.

AOAC International. Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, USA. 2000.

ARAÚJO, J. M. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 4. Ed. Viçosa: Editora UFV, 477p, 2008.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington, VA. Washington (USA): AOAC, 1998.

AZEVEDO, R. A., et al. Desenvolvimento do trato digestivo de bezerros leiteiros criados em sistema de aleitamento fracionado. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33:931–936, 2013.

BENETEL, G. **Uso de óleos essenciais como estratégia moduladora da fermentação ruminal para mitigação das emissões de metano por bovinos Nelore Pirassununga, SP**. 2018. 92f. Tese (Doutorado em Zootecnia – Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

BOHATIER, J. The rumen protozoa: taxonomy, cytology and feeding behaviour. In: JOUANY, J.P. (Ed.). **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion**. Paris: Inra, 1991. p. 27-38.

BUENO, I. C. S. et al. In vitro methane production and tolerance to condensed tannins in five ruminant species. **Animal Feed Science and Technology**, v. 205, p. 1–9, 2015.

CARULLA, J. E. et al. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 56, p. 961-970, 2005.

CHIQUETTE, J. et al. Effect of tannins on the digestibility of two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) using in vitro and in sacco techniques. **Canadian Journal of Animal Science**. v. 68, p.751–754. 1988.

COSTA, S. F., et al. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerros - I Aspectos histológicos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 60:1–9. 2008.

COZZOLINO, S. M. F. (2009). **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 3. Ed. São Paulo: Manole, 1200 p.

DEHORITY B. A. **Classification and Morphology of Rumen Protozoa**. Department of Animal Science. Columbus: University of Ohio, 82p. 1977.

DURMIC, Z., et al. In vitro screening of selected feed additives, plant essential oils and plant extracts for rumen methane mitigation. **Journal Science of Food and Agriculture**. v.94, p. 1191–1196, 2014.

EPA, 2010. Inventory of U.S. **Greenhouse gas emissions and sinks: 1990-2008**. U.S. EPA, Washington DC, pp. 6.1–6.7, chap.6.

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyzes of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, n. 9, p. 1768-1771, 1961.

FAGUNDES, G. M. **Leguminosas taniníferas como estratégia nutricional na mitigação das emissões de metano em bovinos e a interface entre planta-animal-solo**. Pirassununga, SP. 2017. 115f. Tese (Doutorado em Zootecnia – Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

FOLDAGER, J. **Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation**. 1977. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Michigan State University East Lasing, MI. 1977.

GERLACH, K.; PRIESB, M.; SÜDEKUMA, K. Effect of condensed tannin supplementation on in vivo nutrient digestibilities and energy values of concentrates in sheep. **Small Ruminant Research**, 2018.

GETACHEW, G. G. et al. Laboratory variation of 24h in vitro gas production and estimated metabolizable energy values of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 102, p. 169-180, 2002.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R. (Eds): **Anais do primeiro Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.73-89, 2003.

GRAINGER, C. et al. Potential use of Acacia mearnsii condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 89, p. 241–251, 2009.

HALL, M. B. **Neutral detergent-soluble carbohydrates: nutritional relevance and analysis, a laboratory manual**. Gainesville: University of Florida, 2000.

HERVAS, G., et al. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. **Journal of. Agriculture Science**, v. 105, p. 305–310, 2000.

JAIN, N.C. Essentials of veterinary hematology. **Philadelphia**: Lea & Febiger, 1993.

KANEKO, J. J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. 1997. (Eds.) Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Press, 932p.

KOZLOSKI, G. V., et al. Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. **Small Ruminant Research**, v. 106, p. 125– 130, 2012.

KULASEK, G. A. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood cells using urease and phenol reagent. **Pol Arch Weter**, v. 15, p. 801-810, 1972.

LIMA, M. B., et al. Intervalos de referência sanguíneos e a influência da idade e sexo sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Santa Inês criados na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, v. 45, n.3, p. 317 – 322, 2015.

LIMA, A. R. C. Effects of feed restriction and forage: concentrate ratio on digestibility, methane emission, and energy utilization by goats. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 12, p. 781-787, 2016.

LOYOLA, V. R.; PAILE, B.J.A. Utilização de Aditivos em Rações p/ Bovinos: Aspectos Regulatórios e Segurança Alimentar. Anais 8º Simposio Sobre Nutrição de Bovinos, FEALQ, Piracicaba, p. 213 –244. 2006.

MAKKAR, H. P. S.; BLÜMMEI, M.; BOROWY, N. K.; BECKER, K. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. **Journal of Science and Food Agriculture**, v.61, p.161-165, 1993.

MAKKAR, H. P. S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, p.241-256, 2003.

MARTINELE, I. et al. Efeito da monensina e do óleo de soja sobre os protozoários ciliados do rúmen e correlação dos protozoários com parâmetros da fermentação ruminal e digestivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1129-1136, 2008.

MCALLISTER, T.A. et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.72, p. 3004–3018. 1994.

MCSWEENEY, C. S. et al. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 83–93, 2001.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber In feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.

MIN, B. R. et al. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants feed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 105, p. 3-19, 2003.

MINHO, A. P. et al. Efficacy of condensed tannin presents in acacia extract on the control of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1360-1365, 2010.

MUIR, J. P. The multi-faceted role of condensed tannins in the goat ecosystem. **Small Ruminant Research**, v. 98, p. 115–120, 2011.

NASCIMENTO, C. F. M. et al. Methane emission of cattle fed *urochloa brizantha* hay harvested at different stages. **Journal of Agricultural Science**, v. 8, n. 1; 2016.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Sheep**. 6th Ed. National Academy of Sciences, Washington, DC. 1985.

MEYER D. J. HARVEY J. W. Veterinary Laboratory Medicine: **Interpretation and diagnosis**. 3rd ed. W.B. Saunders, St Louis, Missouri. 351p. 2004.7

OLIVEIRA, R.C. e IGARASI, M.S. Utilização de óleos essenciais na mitigação da metanogênese. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 6, Ed. 229, Art. 1515, Março, 2013.

ONU – Organização das Nações Unidas. ONU projeta que população mundial chegue aos 8,5 mil milhões em 2030. 2015.

Disponível em: <<http://www.unric.org/pt/actualidade/31919onu-projeta-que-populacao-mundial-chegue-aos-85-mil-milhoes-em-2030>>. Acesso 21 de março de 2016.

PARASKEVAKIS, N. Effects of dietary dried Greek Oregano (*Origanum vulgare ssp. hirtum*) supplementation on blood and milk enzymatic antioxidant indices, on milk total antioxidant capacity and on productivity in goats. **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p. 90–97, 2015.

PATRA, A. K.; LALHRIATPUII, M. Development of statistical models for prediction of enteric methane emission from goats using nutrient composition and intake variables. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 215, p. 89–99, 2016.

REED, J. D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal of Animal Science**, v. 73, p.1516–1528, 1995.

RIBEIRO, S. S. **Extrato tanífero de *acacia mearnsii* como aditivo na nutrição de ruminantes**. 2014. 81 f. Tese - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2014.

SIMITZIS, P. E. et al. Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. **Meat Science**, v. 79, p. 217–223, 2008.

SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability **Journal Animal Science**, v. 70, p. 3562-3577, 1992.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS. **Statistical analysis user's guide**. Version 8.2. Cary, 2001. 1686 p.

VAN SOEST, P. J. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

ZERVAS, G.; TSIPLAKOU, E. An assessment of GHG emissions from small ruminants in comparison with GHG emissions from large ruminants and monogastric livestock. **Atmospheric Environment**, v. 49, p. 13-23, 2012.

WAGHORN, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production— Progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v. 147, p. 116-139, 2008.

WHITELAW, F. G. et al. Methane formation in faunated and ciliate-free cattle and its relationship with rumen volatile fatty acid proportions. **British Journal of Nutrition**, v. 52, p. 261-275. 1983.

3. Capítulo II. Qualidade da carne de cordeiros confinados alimentados com extratos de plantas como aditivos naturais

Resumo

Objetivou-se avaliar com o presente estudo o efeito dos aditivos naturais, óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra, na dieta de cordeiros confinados em terminação sobre as características físicas, centesimais, TBARS e perfil de ácidos dos graxos da carne de ovinos confinados em terminação. Foi utilizada a carne de 36 ovinos machos, não castrados, provenientes de cruzamento Dorper x Santa Inês x Texel, com aproximadamente 143 dias de idade, e peso vivo médio final 40 kg ($42,81 \pm 3,97$ kg). Anteriormente ao abate, os animais foram submetidos a um período experimental de 53 dias, onde foram distribuídos em delineamento de blocos inteiramente casualizados, em três tratamentos, com doze repetições. Todos os tratamentos foram compostos por uma dieta padrão, sendo distintos apenas em relação aos aditivos utilizados: tratamento 1 - dieta controle; tratamento 2 - dieta controle com óleo essencial de orégano (1 ml/kg de concentrado) e tratamento 3 - dieta controle com extrato de taninífero de acácia negra (5% MS da dieta). A dieta foi formulada com proporção volumoso: concentrado de 30:70. A carne de cordeiros alimentados com o óleo essencial de orégano foi mais luminosa, no entanto, tendeu ser mais dura. O óleo essencial alterou a composição centesimal da carne e a concentração de TBARS, e aumentou o teor do ácido graxo DHA em 13% em relação ao tratamento controle. O extrato de acácia negra também aumentou a luminosidade da carne, porém, reduziu em 4% o teor de PB da carne e a concentração de TBARS em 28% em relação ao tratamento controle. O extrato taninífero tendeu a aumentar o teor de ácido vacênico e o ômega 3. Adicionalmente, o extrato taninífero aumentou em 27% o total de CLA, quando comparado ao controle e óleo essencial de orégano. O óleo essencial de orégano deixa a carne mais luminosa e aumenta o teor de DHA na carne de cordeiros. O extrato taninífero de acácia negra pode atuar como um antioxidante natural, aumenta o teor de CLA total e tende a aumentar o teor ômega 3, e tem um possível efeito na redução da atividade da delta-9-dessaturase, reduzindo o teor de ácido oleico da carne.

Abstract

The present study aimed to evaluate the effect of natural additives, oregano essential oil and acacia taniniferous extract, in the diet of feedlot lambs on physical, centesimal, TBARS and fatty acids profile of lambs' meat. Thirty-six male lambs, not-castrated, from crossbreeding Dorper $\times$ Santa Inês $\times$ Texel, averring 143 d of age and 42.8 ± 2.8 kg body weight were used. Prior to slaughter, lambs were submitted to a 53 days feedlot period, where they were distributed in a randomized block design, with three treatments and twelve repetitions. All treatments were based on a regular diet, and the additives were included as follow: treatment 1 - control diet; treatment 2 - control diet + oregano essential oil (1 ml/kg of concentrate) and treatment 3 - control diet + Acacia taniniferous extract (5% of DM). Diet was formulated with forage:concentrate ratio of 30:70. Meat of lambs fed oregano essential oil was more luminous, however tended to be stronger. Oregano essential oil changed the centesimal composition of meat and TBARS, and increased concentration of DHA fatty acid by 13% compared to control treatment. Acacia taniniferous extract also increased the luminosity of meat, but reduced by 4% meat CP content and TBARS concentration by 28%, in relation to control treatment. Acacia taniniferous extract tended to increase vaccenic acid and omega 3 content. Additionally, taniniferous extract increased by 27% the total CLA, compared to control and oregano essential oil. Oregano essential oil results in meat with more luminosity and increases lambs' meat content of DHA. Acacia taniniferous extract can act as a natural antioxidant, increases total CLA content and tends to increase omega 3 content, and has a possible effect on reduction of delta-9-desaturase activity, reducing oleic acid content.

3.1 Introdução

Atualmente o tema mudanças climáticas, ao lado das questões econômicas e de segurança alimentar, passam notoriamente a fazer parte do rol das principais preocupações da sociedade. Isso porque, essas mudanças são causadas pela intensificação das atividades humanas que potencializaram o fenômeno natural da Terra que é o efeito estufa (OLIVEIRA e IGARASI, 2013). Conciliar formas de reduzir risco ambiental e produzir alimentos mais saudáveis, é um dos grandes pontos-chaves da nutrição de ruminantes atualmente.

Apesar do mercado consumidor estar cada vez mais informado e exigente quanto à qualidade, segurança alimentar e nutricional dos produtos de origem animal, a agilidade no preparo das refeições ainda é principal ponto na escolha do produto que vai ser consumido. Este, de fato, é um grande problema e um risco à saúde pública, pois uma alimentação pouco saudável, e associada ao sedentarismo, pode acarretar no desenvolvimento de uma série de doenças (WELTER, 2015).

Doenças não transmissíveis (DNT) são a maior causa de mortalidade no mundo, sendo elas as doenças cardíacas, derrame, câncer, doenças respiratórias crônicas e diabetes. Entre os fatores de risco que desencadeiam essa série de doenças podem ser mencionados o uso de tabaco, álcool, dieta insalubre, atividade física insuficiente, obesidade, pressão arterial elevada, aumento do açúcar e do colesterol no sangue. No Brasil, cerca de 514 a cada 100.000 pessoas morreram por doenças não transmissíveis entre os anos de 2002 e 2012. No mundo, em 2015, morreram 56 milhões de pessoas pela DNT, sendo que 48% dessas mortes foram em países de baixa e média renda, antes dos 70 anos. No entanto, cerca de 80% das DNT, como doenças do coração, acidente vascular cerebral e diabetes, podem ser prevenidas, como informa a Organização Mundial da Saúde (2015).

A redução no risco de desenvolvimento de doenças não transmissíveis pode ser realizada pela combinação de micronutrientes, antioxidantes, substâncias fitoquímicas presentes em alguns alimentos. Os alimentos com propriedades de prevenir e/ou minimizar enfermidades crônicas não transmissíveis recebem a denominação de alimentos funcionais e os princípios ativos, de substâncias bioativas, como por exemplo os compostos fenólicos, destacando-se os flavonoides, muito presentes nos taninos e óleos essenciais. Esses, são os mais abundantes antioxidantes exógenos presentes nos alimentos (PEREIRA e CARDOSO, 2012). Estes compostos estão associados à menor

incidência e menor mortalidade por doenças não transmissíveis, sobretudo o câncer, em seres humanos (WCRF, 2007). Ressalta-se assim a importância da dieta balanceada na prevenção de enfermidades.

Fontes de alimentos de origem animal são uma contribuição vital para a nutrição global e são uma excelente fonte de macro e micronutrientes. A carne representa 25% do consumo global de proteínas (FAO, 2017). A carne é um alimento de alto valor biológico, fornece micronutrientes essenciais, como vitamina B12, ferro e cálcio. A carne também é fonte de aminoácidos essenciais que são importantes na construção e manutenção dos tecidos, formação de hormônios, enzimas, proteínas transportadoras, proteínas estruturais e anticorpos. No entanto, esse alimento pode apresentar uma quantidade de gordura elevada, principalmente saturada, que a médio e longo prazo pode contribuir no desenvolvimento de obesidade e doenças cardiovasculares (HAUTRIVE; MARQUES; KUBOTA, 2012).

A carne de cordeiro é uma fonte rica de proteína (18-20%) de alta qualidade, vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina e cobalamina) e minerais, incluindo ferro e fósforo. Além disso, a carne de cordeiro tem uma maior proporção de ácidos graxos poliinsaturados em relação aos ácidos graxos saturados (50 mg/100 mg de ácido graxo), em comparação com a carne bovina (38 mg/100 mg) e a carne suína (22 mg/ 100 mg), fator benéfico para a saúde, uma vez que ajuda a controlar os níveis de colesterol no sangue (WOOD et al., 1999).

Os aditivos naturais, como óleos essenciais e extratos taniníferos, além de modificar o metabolismo ruminal, atuando a seleção de microrganismos, também modificam a biohidrogenação ruminal (BH), podendo elevar os ácidos graxos poliinsaturados na carne, em particular os ácidos graxos CLA e ômega-3, modificando o perfil de ácidos graxos do produto final, trazendo grandes benefícios para a saúde humana (PRATA, 2014).

No entanto, relatos sobre os efeitos dos taninos e óleos essenciais na BH ruminal e na composição da carne ou gordura do leite ainda são poucos e contraditórios. Enquanto experimentos *in vitro* (VASTA et al., 2009) mostram efeitos positivos no acúmulo de ácido vacênico no rúmen, *in vivo* estudos parecem não sugerir efeitos significativos ou mesmo negativos (BENCHAAAR; CHOUINARD, 2009). Assim, objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito dos aditivos naturais, do óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra, na dieta de cordeiros confinados em terminação sobre as características físicas, centesimais, TBARS e perfil de ácidos dos graxos da carne.

3.2 Material e Métodos

O projeto de pesquisa foi desenvolvido na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, campus de Pirassununga. Foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - FZEA/USP (CEUA nº 5804310815).

3.2.1 Amostras, período experimental, delineamento e dieta

Foram coletadas amostras de carne de 36 ovinos machos, não castrados, provenientes de cruzamento Dorper x Santa Inês x Texel, com aproximadamente 143 dias de idade. A coleta das amostras de carne foi realizada em um frigorífico comercial, no momento da desossa das carcaças, 5 dias após o abate. Entre o abate e a desossa, as carcaças foram mantidas refrigeradas à temperatura de 2°C. Na desossa, foi retirado todo o lombo da meia carcaça esquerda (músculo *Longissimus dorsi*), foram separadas as amostras para cada análise, embaladas em papel laminado e congeladas a -20°C para posterior análise.

Previamente ao abate dos animais, os mesmo foram submetidos ao um período experimental de 53 dias, onde foram distribuídos em um delineamento experimental em blocos casualizados, utilizando como critério de bloqueamento o peso ao desmame, em três tratamentos, com doze repetições. Os animais foram alimentados com uma dieta padrão, sendo distinto apenas em relação aos aditivos utilizados: tratamento 1 - dieta controle; tratamento 2 - dieta controle com óleo essencial de orégano (1 ml/kg de concentrado) e tratamento 3 - dieta controle com extrato de taninífero de acácia negra (5% matéria seca da dieta). A dieta foi formulada segundo NRC (1985) com proporção volumoso: concentrado de 30:70 (Tabela 12).

Tabela 12. Ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais.

Variáveis	Tratamentos		
	Controle	Óleo essencial de orégano	Extrato taninífero de acácia negra
Ingredientes % MS			
Milho moído	46,57	46,57	46,57
Farelo de soja	15,21	15,21	15,21
Sal comum	0,75	0,75	0,75
Suplemento mineral ¹	2,48	2,48	2,48
Calcário	1,45	1,45	1,45
Óleo de soja	4,14	4,14	4,14
Óleo essencial de orégano ² , ml/kg	-	1	-
Extrato taninífero de acácia negra ³ , %	-	-	5
Silagem de milho	29,41	29,41	29,41
Composição Bromatológica % MS			
MS	56,53	56,53	56,53
MO	92,68	92,68	92,68
MM	7,32	7,32	7,32
PB	14,12	14,12	14,12
EE	6,79	6,79	6,79
FDN	22,26	22,26	22,26
FDA	14,04	14,04	14,04
CT ²	71,77	71,77	71,77
CNF ³	49,51	49,51	49,51
NDT ⁴	77,89	77,89	77,89
Energia líquida, Mcal/kg	1,60	1,60	1,60

¹Suplemento mineral (quantidade de minerais por kg de produto)= fósforo 61 g, cálcio 267 g, enxofre 35 mg, zinco 6000 mg, manganês 2000 mg, cobre 350 mg, cromo 60 mg, ferro 3000 mg, molibdênio 500 mg, magnésio 20 g, iodo 80 mg, cobalto 20 mg, selênio 23 mg, flúor 610 mg; ²Óleo essencial de orégano= ml/kg de concentrado; ³Extrato taninífero de acácia negra= % na MS da dieta, Seta Sun® (Seta, Estância Velha, Rio Grande do Sul), ²CT= Carboidratos totais (Sniffen et al, (1992)); ³CNF= Carboidratos não-fibrosos (Hall (2000)); ⁴NDT= Nutrientes digestíveis totais (Sniffen et al, (1992)); ⁵EL= Energia líquida de ganho (NRC (1985)).

O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) foi adquirido na empresa Ferquima Industria e Comercio LTDA (Vargem Grande Paulista – SP). O extrato taninífero de acácia negra (*Acacia mearnsii*) utilizado neste experimento foi o produto Seta Sun® da empresa Seta (Estância Velha/RS, Brasil).

A caracterização química do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Multi Usuário de Bioquímica e Análise Instrumental do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP, através de cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas GC/MS QP2010 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japan), com coluna capilar Difenil Dimetil polissiloxano (5% diphenyl e 95% dimethyl polysiloxane) 30 m x 0,25mm, 0,25 um, modelo Rtx®-5MS (Resteck, Bellefonte, USA). Os compostos

voláteis foram identificados através da comparação entre os índices Kovats (IK) calculados e observados em biblioteca da literatura Wiley Library (Version 8) e entre os respectivos espectros de massa. Os maiores picos de área total do cromatograma foram identificados (Tabela 13).

Tabela 13. Identificação e quantificação dos compostos secundários presentes no óleo essencial de orégano.

Óleo essencial de orégano					
Picos	Compostos	Fórmula	TR*	IR**	(%)
1	α -tujeno	C ₁₀ H ₁₆	10,160	950	0,90
2	β -pineno	C ₁₀ H ₁₆	10,414	998	2,79
3	canfeno	C ₁₀ H ₁₆	10,945	1012	0,46
4	α -pineno	C ₁₀ H ₁₆	11,959	1022	0,73
5	mirceno	C ₁₀ H ₁₆	12,424	1037	2,23
6	α -terpineno	C ₁₀ H ₁₆	13,400	1056	0,26
7	p-cimeno	C ₁₀ H ₁₄	13,722	1076	16,05
8	γ -terpineno	C ₁₀ H ₁₆	14,982	1143	6,88
9	linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	16,443	1186	3,09
10	timol	C ₁₀ H ₁₄ O	23,302	1379	4,93
11	carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	32,749	1709	61,68

*TR = Tempo de retenção (minutos); **IR = Índice de retenção. Fonte: Benetel (2018).

As concentrações de compostos fenólicos foram determinadas por método espectrofotométrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu conforme descrito por Makkar (2003). Os taninos totais foram estimados pela diferença na concentração de compostos fenólicos, utilizando o tratamento com PVPP (polivinilpolipirrolidona) insolúvel segundo método descrito por Makkar et al. (1993). O ácido tânico foi utilizado como padrão, tanto para taninos totais, como para compostos fenólicos. As concentrações de taninos condensados foram determinadas pelo método butanol-HCl (MAKKAR, 2003) usando leucocianidina como padrão (Tabela 14).

Tabela 14. Quantificação dos compostos presentes no extrato taninífero de acácia negra.

Variáveis	Extrato taninífero de acácia negra
Compostos fenólicos, eq-g de ácido tânico/kg MS	950
Taninos totais, eq-g de ácido tânico/kg MS	933
Taninos condensado, eq-g leucocianidina/kg MS	351

3.2.2 Características físicas da carne

Para a realização das análises foram utilizados dois bifes de aproximadamente 2,5 cm de espessura, retirados do lombo da meia carcaça esquerda (músculo *Longissimus dorsi*). Ao realizar a coleta na desossa, a carne foi embalada em papel laminado permanecendo apenas refrigerada, para realização das análises no dia posterior.

Para análise da cor as amostras foram retiradas do papel laminado e deixadas em exposição ao ambiente por 20 minutos. Posteriormente foi realizada a leitura no colorímetro portátil Konica Minolta Spectrophotometer (CMD2500d; Konica Minolta Sensing, Inc, Tóquio, Japão) operando no sistema CIELab (CIE, 1986) onde L^* é associado a luminosidade variando do 0 (preto) a 100 (branco), a^* intensidade da cor verde para a vermelha, b^* intensidade da cor azul para a amarela.

Para análise de perdas por cocção (PPC), foram utilizados os mesmos bifes descritos anteriormente. Os bifes foram pesados ainda crus, assados em forno elétrico industrial (Modelo F130/L) a 170°C, até que a temperatura interna atingisse 40°C, então as amostras foram viradas e permaneceram no forno até atingirem 71°C, conforme recomendado pela American Meat Science Association (AMSA, 2015). Foram utilizados termômetros individuais da marca Gulterm, modelo 700-10S. Em seguida, os bifes foram resfriados a temperatura ambiente, e pesados novamente. A PPC foi calculada pela diferença de peso antes e depois do cozimento [$PPC = (P_i - P_f) / P_i \times 100$]. Após a pesagem, as amostras foram refrigeradas a temperatura de 5°C por 24 horas.

A determinação da maciez da carne foi realizada por meio da força média de cisalhamento, após 24 horas de refrigeração a 5°C, através do aparelho Warner Bratzler Shear Force. Foram retirados 2 cilindros de 12 mm de cada bife, totalizando 4 cilindros, com o auxílio de um vazador elétrico. Os cilindros foram então inseridos no equipamento para avaliação da força do cisalhamento.

3.2.3 Análise centesimal da carne

Foi realizada a análises centesimal das amostras. O teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl, o qual quantifica o nitrogênio total da amostra. No cálculo de conversão de nitrogênio em proteínas, foi utilizado o fator 6,25. O teor de umidade foi quantificado pelo método gravimétrico de secagem em estufa com circulação de ar a 105°C. O teor de cinzas das amostras foi determinado através da incineração em forno

mufla à temperatura de 550°C de acordo com AOAC (2000). Os lipídios totais foram determinados de acordo com protocolo de extração pela metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959).

Para determinação de TBARS foram utilizadas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, cuja concentração foi mensurada em mg de malonaldeído/kg de carne, segundo método descrito por Sorensen e Jorgensen (1996).

3.2.4 Perfil de ácidos graxos dos alimentos e da carne

Foi realizada a análise de perfil de ácido graxo da carne de ovinos confinados em terminação e dos ingredientes da dieta. Foram coletadas amostras dos ingredientes que compõem a dieta para análise de perfil de ácidos graxos dos alimentos (Tabela 15), sendo congeladas a -20°C para posterior análise. As amostras do m. *Longissimus* foram utilizadas para a análise do perfil de ácidos graxos. Foi utilizada uma sub amostra de aproximadamente 2,8g do centro do m. *Longissimus*, adicionada em um tubo Falcon de 50 mL. A extração foi realizada pelo método descrito por Folch et al. (1957), onde os lipídeos foram extraídos por homogeneização da amostra com uma solução de clorofórmio e metanol 2:1 em homogenizador Ultra Turrax Marconi®. Em seguida, os lipídeos foram isolados após a adição de solução de NaCl a 1,5%. A gordura separada foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com metodologia descrita por Kramer et al. (1997). Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (CG-2010 Plus - Shimadzu, auto injetor AOC 20i), usando coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial da coluna foi de 45°C, com aquecimento progressivo até chegar a 175°C, mantendo-se por 27 minutos. Em seguida, um novo aumento de 4°C/minuto foi iniciado até 215°C, mantendo-se durante 35 minutos. Foi utilizado Hidrogênio (H₂) como gás de arraste com fluxo de 40 cm³/s. Os ácidos graxos foram identificados de acordo com o tempo de retenção dos ésteres de metil das amostras utilizando-se os padrões 463 Nu-Chek®, ácido vacênico C18:1 trans-11 (V038-1G, Sigma®), C18:2 trans-10 cis-12 (UC-61M 100mg - Nu-Chek®), C18:2 cis-9, trans-11 (UC- 60M 100mg - Nu-Chek®), e ácido tricosanóico (Sigma®). Os ácidos graxos foram quantificados por normalização da área dos picos dos ésteres de metil, com uso do *Software GS solution 2.42*®. Os ácidos graxos foram expressos em porcentagem do total de metil éster quantificado e as análises

foram realizadas no Laboratório de Ciência da Carne da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

Tabela 15. Perfil de ácidos graxos da dieta experimental.

Ácido graxo %	Tratamento
	Controle
C10:0 - Capríco	0,0291
C12:0 - Laurico	0,0394
C14:0 - Mirístico	0,0989
C15:0 - Pentadecanoico	0,0218
C16:0 - Palmítico	13,1983
C16:1 trans 9 - Palmitoleico	0,0519
C16:1 cis 9 - Palmitoleico	0,1469
C16:1 cis 10 - Palmitoleico	0,0027
C17:0 - Heptadecanoico	0,1061
C17:1 cis 10 - Heptadecenoico	0,0475
C18:0 - Estearico	2,7497
C18:1 trans 9 - Elaidico	0,0700
C18:1 n9 cis - Oleico	26,0523
C18:1 trans 10	0,0042
C18:1 cis 11	1,4591
C18:1 cis/trans 12 ou C18:1 cis/trans 13	0,0093
C18:2 trans 10, cis 15/trans 11, cis 15	0,0905
C18:2 n6 cis - Linoleico	45,9193
C18:2 n6 trans - Linolelaídico	0,0009
C19:0 Nonadecanoico	0,0001
C20:0 Araquídico	0,3987
C18:3 n3 - Linolenico	0,0010
C18:3 n6 - γ linolenico	0,1210
C20:1 Eicosenoico cis 5	0,0444
C20:1 Eicosenoico cis 8	0,2157
C20:1 Eicosenoico cis 11	2,8286
C20:2 n6 Eicosadienoico cis 11,14	0,0012
C20:3 n3 - Eicosatrienoico cis 11, 14, 17	0,0001
C20:3 n6 Eicosatrienoico cis 8, 11, 14	0,2452
C20:5 n3 - Eicosapentaenoico cis 5, 8, 11, 14, 17	0,0062
C21:0 - Heneicosanoico	0,0010
C22:1 n9 Erucico	0,0178
C22:3 n3 - Docosatrienoico cis 13, 16, 19	0,0011
C22:4 n6 - Docosatetraenoico	0,0001
C22:6 n3	0,0459
C23:0 - Tricosanoico	0,0555
C24:0 Lignocerico	0,2337
AG não identificados	5,6847

A qualidade nutricional da fração lipídica da carne foi avaliada pelo soma dos AG ômega 3 e 6, e por três índices a partir dos dados de composição dos ácidos graxos, através dos seguintes cálculos:

Ômega3= Linolênico C18:3 n-3; Alfa-linolênico C18:3 n-3 trans-9,trans-12,cis-15/cis-9,cis-12,trans-15, Eicosatrienóico C20:3 n-3 cis-11,14,17; Eicosatetraenóico C20:4 n-3 cis-8,11,14,17; Eicosapentaenóico (EPA) C20:5 n-3 cis-5,8,11,14,17; Docosapentaenóico (DPA) C22:5 n-3 cis-7,10,13,16,19; Docosaheptaenóico (DHA) C22:6 n-3 cis-4,7,10,13,16,19;

Ômega 6= Linoléico C18:2 n-6 cis-9,12; Linolelaídico C18:2 n-6 trans-9,12; Gama-linolênico C18:3 n-6 cis-6,9,12, Eicosadienóico C20:2 n-6 cis-11,14; Eicosatrienóico C20:3 n-6 cis-8, 11, 14; Araquidônico C20:4 n-6 cis-5,8,11,14; Docosadienóico C22:2 n-6 cis-13,16; Docosatetraenóico C22:4 n-6 cis-7,10,13,16;

Índice de Aterogenicidade (IA) = [(C12:0 + (4 x C14:0) + C16:0)]/(ΣAGMI + Σω6 + Σω3);

Índice de Trombogenicidade (IT) = (C14:0 + C16:0 + C18:0)/[(0,5 x ΣAGMI) + (0,5 x Σω6 + (3 x Σω3) + (Σω3/Σω6)], segundo Ulbricht e Southgate (1991);

Razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (h/H)= (C18:1cis9 + C18:2ω6 + C18:3ω3 + C20:5ω3 + C22:6ω3)/(C14:0 + 16:0), segundo Santos-Silva, Bessa e Santos-Silva (2002).

3.2.5 Análise estatística

Os resultados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System® (SAS, 2001), em delineamento de blocos inteiramente casualizados. Após verificação da normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias, o procedimento estatístico adotado foi de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-MIXED do SAS (versão 9.0), adotando-se nível de significância de 5%, de acordo com o seguinte modelo:

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

em que Y_{ij} = é o valor observado; μ = média geral; T_i = efeito fixo de tratamento i , $i = 1$ a 4; B_j = efeito aleatório do bloco (animal) j , $j = 1$ a 3; e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação. Os graus de liberdade foram calculados de acordo com o método Satterthwaite (DDFM = Satterth). As médias ajustadas foram obtidas e comparadas ($\alpha = 0,5$) pela opção DIFF do “statement” LSMEANS do SAS (2001).

3.3 Resultados

A inclusão dos aditivos naturais, óleo essencial de orégano e extrato taninífero de acácia negra na dieta de cordeiros em terminação não alterou a intensidade de cor vermelha (cor: a^*), intensidade de cor amarela (cor: b^*), perdas por cocção e maciez (força de cisalhamento) da carne (Tabela 16). O tratamento óleo de orégano apresentou uma tendência ($P = 0,07$) da carne ser menos macia, do que o tratamento controle e extrato taninífero. Na variável luminosidade (cor: L^*), houve diferença entre os tratamentos, sendo a carne do tratamento com óleo de orégano mais luminosa que o controle, no entanto, semelhante ao extrato taninífero. Já o extrato taninífero foi semelhante também ao tratamento controle.

Tabela 16. Características físicas da carne de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo essencial de orégano	Extrato taninífero de acácia negra		
Cor a^1	12,869	13,345	13,413	0,2945	0,6220
Cor b^2	11,388	10,235	10,243	0,5687	0,5969
Cor L^3	24,869 ^b	28,395 ^a	26,268 ^{ab}	0,5494	0,0193
FC ⁴ , N	16,534	20,309	15,710	0,0902	0,0704
PPC ⁵ , %	21,808	21,183	22,250	0,4905	0,5190

¹Cor a = Intensidade da cor verde para a vermelha; ²Cor b = Intensidade da cor azul para a amarela; ³Cor L = Luminosidade da carne de 0 (preto) a 100 (branco); ⁴FC= Força de cisalhamento; ⁵PPC= Perdas por cocção; *EPM= Erro padrão da média.

O teor de umidade, matéria mineral e lipídios totais da carne não foram alterados com a inclusão dos aditivos naturais (Tabela 17). O extrato taninífero reduziu o teor de proteína da carne ($P=0,0168$) e a concentração do TBARS ($P=0,0136$) quando comparado ao tratamento controle e óleo essencial de orégano, que foram semelhantes entre si.

Tabela 17. Análise centesimal, lipídeos e TBARS da carne de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo de orégano	Extrato de acácia negra		
Umidade, %	74,497	74,399	74,780	0,2047	0,7384
Matéria mineral, %	0,9352	0,9519	0,9562	0,0084	0,5851
Proteína, %	22,560 ^a	22,415 ^a	21,664 ^b	0,1409	0,0168
Lipídeos, %	2,9942	2,6944	2,5186	0,1245	0,3085
TBARS, mg MDA/kg de carne	0,2938 ^a	0,3255 ^a	0,2320 ^b	0,0140	0,0136

*EPM= Erro padrão da média.

O extrato taninífero de acácia negra aumentou os teores dos ácidos graxos C16:1 *trans*-13 (P=0,0409), 17:0 ISO (P=0,0034), C18:1 *trans*-6/8 (P=0,0004), elaídico C18:1 *trans*-9 (P=0,0001), C18:1 *trans*-10 (P=0,0071), C18:1 *trans*-13/14 (P=0,0366), C18:1 *trans*-16/*cis*-14 (P=0,0088), C18:2= *trans*-10, *cis*-15/*trans*-11, *cis*-15 (P=0,0046) e linoléico C18:2 n-6 *cis* (P=0,0178) na carne de ovinos em terminação em comparação ao tratamento controle e óleo essencial de orégano (Tabela 18). Os aditivos naturais apresentaram uma tendência (P=0,0654) de aumento do ácido láurico (C12:0), em comparação ao tratamento controle. Os aditivos também aumentaram (P=0,0001) o teor do ácido graxo palmitoleico (C16:1 *trans*-9), onde o maior teor foi observado no extrato taninífero, 17:0 DMA (P=0,0393) e α -linolênico C18:3 n-3 (P=0,0016) respectivamente. O ácido graxo Palmitoleico (C16:1 *cis*-9) reduziu seu teor (P=0,0316) quando foi incluso o extrato taninífero. Também houve uma tendência (P=0,0829) na redução do C19:1, para o mesmo tratamento, em comparação ao tratamento controle e óleo essencial. O óleo essencial de orégano apresentou o maior (P=0,0205) teor de ³C22:6 n-3 DHA *cis*-4, 7, 10, 13, 16, 19, em comparação aos demais tratamentos, que não apresentaram diferença entre si.

Tabela 18. Perfil de ácidos graxos do músculo *Longissimus dorsi* de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável, %	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo de orégano	Extrato de acácia negra		
C10:0 Cáprico	0,1384	0,1835	0,1285	0,0118	0,1184
C11:0	0,0059	0,0066	0,0039	0,0009	0,4681
C12:0 Láurico	0,0726	0,0864	0,0917	0,0034	0,0654
C13:0	0,0100	0,0090	0,0117	0,0010	0,5493
C14:0 Iso	0,0098	0,0097	0,0066	0,0013	0,5518
C14:0 Mirístico	1,5593	1,6004	1,7643	0,0461	0,1494
C14:1 <i>cis</i> -9 Miristoleico	0,0655	0,0643	0,0550	0,0031	0,3476
C15:0 DMA	0,0158	0,0176	0,0219	0,0017	0,3510
C15:0 Iso	0,0531	0,0620	0,0565	0,0028	0,3955
C15:0 Anteiso	0,0862	0,0966	0,0797	0,0047	0,3284
C15:0	0,3026	0,3340	0,3499	0,0106	0,1723
C15:1 <i>cis</i> -10	0,0737	0,0753	0,0805	0,0042	0,7838
C16:0 DMA	1,1243	1,2387	1,1794	0,0425	0,5458
C16:0 ISO	0,0717	0,0600	0,0702	0,0048	0,5919
C16:0 Palmítico	20,9821	20,8409	20,5109	0,1676	0,4982
C16:1 <i>trans</i> -9 Palmitoleico	0,2412 ^c	0,2850 ^b	0,3232 ^a	0,0094	0,0001
C16:1 <i>cis</i> -7	0,1918	0,2004	0,2037	0,0048	0,5555
C16:1 <i>trans</i> -13	0,3376 ^b	0,3379 ^b	0,3901 ^a	0,0101	0,0409
C16:1 <i>cis</i> -9 - Palmitoleico	1,3340 ^a	1,1624 ^{ab}	1,1005 ^b	0,0400	0,0316
17:0 DMA	0,1064 ^b	0,1343 ^a	0,1295 ^a	0,0053	0,0393
17:0 ISO	0,0284 ^b	0,0365 ^b	0,0470 ^a	0,0024	0,0034
C17:0	1,1062	1,3364	1,2211	0,0504	0,1898
17:1 <i>cis</i> -9	0,8884	1,0034	0,8765	0,0399	0,3696
18:0 DMA	1,0430	1,1005	1,0471	0,0458	0,8568
C18:0 ISO	0,0738	0,0748	0,0714	0,0024	0,8505
C18:0 - Estearico	13,9218	14,2169	14,0920	0,2482	0,8874
C18:1 <i>trans</i> -6/8	0,2680 ^b	0,2831 ^b	0,3744 ^a	0,0131	0,0004
C18:1 <i>trans</i> -9 Elaídico	0,2670 ^b	0,2732 ^b	0,3768 ^a	0,0117	0,0001
C18:1 <i>trans</i> -10	2,8239 ^b	3,0137 ^b	4,2934 ^a	0,2161	0,0071
C18:1 <i>trans</i> -12	0,1685	0,1913	0,2042	0,0076	0,1174
C18:1 <i>trans</i> -13/14	0,3339 ^b	0,3460 ^b	0,4066 ^a	0,0144	0,0366
C18:1 <i>cis</i> -12	0,0934	0,0820	0,0906	0,0036	0,4331
C18:1 <i>cis</i> -13	0,1113	0,1083	0,1049	0,0053	0,8948
C18:1 <i>trans</i> -16/ <i>cis</i> -14	0,1382 ^b	0,1294 ^b	0,1878 ^a	0,0086	0,0088
C18:2 n-6 <i>trans</i> Linolelaídico	0,1840	0,1721	0,1883	0,0066	0,5976
C18:2 ¹	0,0608 ^b	0,0818 ^b	0,1447 ^a	0,0115	0,0046
C18:2 n-6 <i>cis</i> Linoléico	6,9854 ^b	7,5857 ^{ab}	8,7240 ^a	0,2624	0,0178
C18:3 n-3 α -Linolênico	0,2599 ^b	0,3023 ^a	0,3404 ^a	0,0104	0,0016
C18:3 n-6 γ -Linolênico	0,0590	0,0634	0,0592	0,0025	0,7605
C19:0	0,0394	0,0397	0,0466	0,0038	0,7064
C19:1	0,0874	0,0823	0,0636	0,0047	0,0829
C20:0 Araquídico	0,0801	0,0814	0,0736	0,0028	0,5008

Continua... Tabela 18. Perfil de ácidos graxos do músculo *Longissimus dorsi* de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

C20:1 <i>cis</i> -5	0,0121	0,0134	0,0171	0,0015	0,4229
C20:1 <i>cis</i> -11	0,0883	0,0801	0,0822	0,0021	0,2633
C20:2 n-6 <i>cis</i> -11,14	0,0582	0,0632	0,0669	0,0025	0,3711
C20:3 n-9	0,1912	0,2080	0,1834	0,0091	0,5500
C20:3 n-6 <i>cis</i> -8, 11, 14	0,1839	0,2073	0,1802	0,0088	0,4129
C20:4 n-6 Araquidônico	2,0912	2,4131	2,0835	0,0773	0,1014
C20:5 n-3 EPA ²	0,1015	0,1010	0,0970	0,0045	0,2797
C22:0 Behênico	0,0181	0,0112	0,0118	0,0021	0,2410
C22:4 n-6	0,1876	0,2103	0,1903	0,0075	0,4272
C22:5 n-3 DPA	0,2517	0,2698	0,2670	0,0110	0,7615
C22:6 n-3 DHA ³	0,0388 ^a	0,0623 ^b	0,0439 ^a	0,0039	0,0205
C23:0	0,0550	0,0747	0,0533	0,0050	0,1620
AGNI ³	1,4562	1,5628	1,6490	0,0502	0,2981

¹C18:2= *trans*-10, *cis*-15/*trans*-11, *cis*-15; ²C20:5 n-3 EPA *cis*-5, 8, 11, 14, 17; ³C22:6 n-3 DHA *cis*-4, 7, 10, 13, 16, 19; ³AGNI= Ácidos graxos não identificados; *EPM= Erro padrão da média.

A inclusão do aditivos naturais não alterou os ácidos graxos de cadeia curta, média e longa, saturados, insaturados e a relação entre eles, mono e poliinsaturados, ácido rumênico, ômega 6 e a relação ômega 6/3, índices de Aterogenicidade, Trombogenicidade e índice h/H (Tabela 19). O extrato taninífero de acácia negra aumentou (P=0,0113) o total de CLA e consequentemente reduziu o percentual de ácido oleico (P=0,0157), em comparação os tratamento controle e óleo essencial de orégano, que foram semelhantes entre si. Houve uma tendência (P=0,0744) de aumento do ácido vacênico no tratamento extrato taninífero. O uso do aditivos naturais tendeu (P=0,0513) a aumentar o teor de ácidos graxos ômega 3 na carne de cordeiros em terminados, quando comparados ao tratamento controle.

Tabela 19. Qualidade nutricional da fração lipídica do músculo *Longissimus dorsi* de cordeiros confinados alimentados com óleo essencial de orégano e do extrato taninífero de acácia negra em fase de terminação.

Variável, %	Tratamentos			EPM*	P-Valor
	Controle	Óleo de orégano	Extrato de acácia negra		
AG Cadeia Curta ¹	0,2318	0,2677	0,2566	0,0155	0,6573
AG Cadeia Média ²	28,847	29,104	28,752	0,1942	0,7305
AG Cadeia Longa ³	69,349	69,166	69,383	0,2476	0,9321
AG Saturados	41,447	41,675	41,246	0,3802	0,8960
AG Insaturados	57,077	56,883	57,146	0,3516	0,9467
Saturado/Insaturado ⁴	0,7291	0,7356	0,7228	0,0110	0,8876
AG Monoinsaturados	45,980	43,876	44,322	0,4882	0,1504
AG Poliinsaturados	11,537	12,489	12,874	0,3240	0,1632
Vacênico	0,4709	0,4920	0,6036	0,0287	0,0744
Rumênico	0,2542	0,2569	0,2827	0,0176	0,7784
Total CLA ⁵	0,4647 ^b	0,4774 ^b	0,5942 ^a	0,0204	0,0113
Ácido oleico	36,083 ^a	33,891 ^{ab}	32,679 ^b	0,5548	0,0157
$\omega 3^6$	0,6355	0,7599	0,7527	0,0255	0,0513
$\omega 6^7$	10,074	10,534	11,141	0,3067	0,2828
Relação $\omega 6/\omega 3$	14,600	13,608	14,575	0,4158	0,5644
Aterogenicidade	0,4968	0,4948	0,4936	0,0080	0,9851
Trombogenicidade	1,2423	0,1936	1,2047	0,0203	0,5702
Índice h/H ⁸	1,8883	1,8588	1,8778	0,0273	0,8959

¹AG Cadeia Curta= C4:0-C12:0; ²AG Cadeia Média =C12:1-C17:1; ³AG Cadeia Longa= C18:0-C24:0; ⁴Saturado/Insaturado= Relação ácido graxo saturado/insaturado; ⁵Total CLA= Total de ácido linoleico conjugado (CLA (18:2): *trans*-7, *cis*-9; *cis*-9, *trans*-11; *trans*-8, *cis*-10; *trans*-9, *cis*-11; *trans*-10, *trans*-12; *trans*-11, *trans*-13; *trans*-7, *trans*-9; *trans*-10, *cis*-12); ⁶ $\omega 3$ = (C18:3n-3+ C18:3 n-3 *trans*-9,*trans*-12,*cis*-15+C20:3n-3+C20:4n-3+C20:5n-3+C22:5n-3+C22:6n-3); ⁷ $\omega 6$ = (C18:2n-6+C18:2n-6*trans*-9,12+C18:3n-6+C20:2n-6+C20:3n-6+C20:4n-6+C22:2n-6+C22:4n-6); ⁸Índice h/H= Hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos; *EPM= Erro padrão da média. %

3.4 Discussão

A inclusão de aditivos naturais na dieta de cordeiros em terminação altera as características físicas, oxidação lipídica e perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros confinados em terminação, quando comparados ao tratamento controle.

A carne de cordeiros alimentados com aditivos naturais aumentou em 14% a luminosidade com a inclusão do óleo essencial de orégano e 6% com o extrato taninífero, em relação ao tratamento controle. A luminosidade é muito importante na escolha da carne pelo consumidor, pois uma carne mais luminosa parece ser mais fresca, mais

apetitosa, estimulando a compra, principalmente a carne ovina, que ainda é alvo de muito preconceito por parte do consumidor (PINHEIRO et al., 2009).

Os ácidos graxos insaturados oxidam com exposição ao oxigênio. A oxidação de pigmentos promove a modificação da cor das carnes, pela transformação do pigmento oximioglobina, de coloração vermelho brilhante, em metamioglobina, tornando a carne marrom-acinzentada, aspecto que o consumidor rejeita no momento da compra. A oxidação na carne tem início pela interação do oxigênio com a membrana (rica em ácido araquidônico), produzindo radicais livres, que por sua vez, iniciam uma reação em cadeia que somente será finalizada quando as reservas de ácidos graxos insaturados e o oxigênio estiverem esgotado (CAMPO et al., 2006).

Houve uma tendência do óleo essencial de orégano aumentar a força de cisalhamento, ou seja, da carne ser mais dura, em relação aos demais tratamentos. No entanto, os valores relatados no presente estudo ainda encontram-se inferiores aos relatados por Monte et al., (2012), ou seja, a carne avaliada no presente estudo ainda é mais macia do que a carne de ovinos sem raça definida, descrita pelo mesmo autor. A maciez da carne é frequentemente o atributo mais importante na satisfação geral do consumidor (SILVA SOBRINHO et al., 2005) e pode ser definida como a facilidade de mastigar a carne com sensações de penetração, corte e resistência à ruptura. Para Morton et al. (1999) o maior fator que afeta a textura do músculo *Longissimus* de cordeiro é a atividade inicial da calpastatina, responsável por inibir a ação da calpaína que, por sua vez, é a enzima proteolítica envolvida no processo de maciez da carne na fase de pós-morte.

O extrato taninífero reduziu em 4% o teor de proteína da carne de cordeiros, quando comparado ao tratamento controle e óleo essencial. Esse fato pode ser explicado pela redução da digestibilidade da MS e dos nutrientes, principalmente a PB, modificando a fermentação ruminal o que pode reduzir a taxa de passagem da digesta, e consequentemente, o fluxo de nutrientes. O extrato taninífero apresentou o menores coeficientes de digestibilidade, em relação ao tratamento controle e óleo de orégano. Apesar dessa redução, do teor de proteína (21,6%), os resultados do presente estudo ainda estão de acordo com a literatura. Pardi et al., (1995) descreve a composição e teores do tecido muscular, onde o teor de proteínas pode variar de 16-22%, de gordura de 1-13%, água de 75-85%, substâncias nitrogenadas não-proteicas apresentam um teor aproximado de 1,5%, carboidratos de 1% e minerais 1% respectivamente.

O aditivo extrato taninífero reduziu em 28% a concentração de as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, TBARS, em relação ao tratamento controle óleo essencial de orégano. Os taninos são polifenóis. Os polifenóis de leguminosas e cereais são, na maior parte dos casos, taninos de origem flavonoide. Os flavonoides são uma das classes de metabólitos secundários de plantas mais abundantes no reino vegetal, onde sua mais importante característica é a propriedade antioxidante. O uso de antioxidantes naturais, como extratos de plantas ricas em taninos e outras substâncias pode ser uma alternativa aos antioxidantes químicos. Além de apresentar efeitos prolongadores da vida de prateleira, alguns antioxidantes naturais podem até modificar o perfil de gorduras depositados nos tecidos animais favorecendo o acúmulo de ácidos graxos poliinsaturados que contribuem para melhoria da saúde humana (DESCALZO; SANCHO, 2008; KARAMI et al., 2011).

A inclusão de aditivos naturais modifica o perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros confinados em terminação. O ácido Linoléico (C18:2 n-6 cis) aumentou em 25% com a inclusão do extrato taninífero e 8% o óleo essencial de orégano, assim como, e ácido alfa-linolênico (C18:3 n-3) aumentou em 31% no tratamento extrato taninífero e 16% no óleo essencial de orégano, em comparação ao tratamento controle. Esse ácidos graxos, C18:2 n-6 e C18:3 n-3, são progressivamente hidrogenados durante a biohidrogenação ruminal para formar C18:0. Alguns dos intermediários da biohidrogenação são o CLA e o ácido vacênico. Considerando que os extrato de plantas inibem a atividade dos microrganismos ruminais (MOLAN, et al, 2001), é provável que os aditivos, extrato taninífero e óleo essencial de orégano tenham inibido biohidrogenação ruminal, resultando em maior acúmulo C18: 2 n6 C18: 3 n3 e na carne dos cordeiros. Adicionalmente, também houve um aumento da concentração do ácido vacênico na carne de cordeiros alimentados com aditivos naturais.

O extrato taninífero de acácia negra apresentou uma tendência de aumentar em 28% o ácido vacênico na carne de ovinos confinados, em comparação do tratamento controle e óleo essencial de orégano. O ácido vacênico é o segundo intermediário da biohidrogenação do ácido linoleico a ácido esteárico. Como a biohidrogenação ruminal pode ter sido parcial ou incompleta houve acúmulo do ácido vacênico no rúmen, e posteriormente na carne.

A inclusão de taninos na dieta de ruminantes altera a biohidrogenação ruminal, pois modifica a fermentação pela sua capacidade de formar complexos com proteína e fibra dietética, inibindo a ação da *Butyrivibrio fibrisolvens* (JONES et al., 1994), uma das

espécies bacterianas conhecidas ser uma das principais espécies microbianas envolvidas na biohidrogenação ruminal. O processo ocorrido no rúmen, a biohidrogenação, é uma forma de defesa natural dos micro-organismos ruminais contra a toxicidade das gorduras insaturadas, os quais convertem a gordura insaturada em saturada, que é menos tóxica (KOZLOSKI, 2002).

O ácido vacênico serve como substrato para a síntese endógena do isômero *cis*-9, *trans*-11 no tecido, pela ação da enzima delta-9-dessaturase durante a síntese lipídica da carne. Segundo Sieber et al. (2004), estima-se que 78% de toda fração de *cis*-9, *trans*-11 presente na carne tenha origem na síntese endógena. No entanto, no presente estudo o ácido rumênico não foi alterado. Apesar disso, o total de CLA aumentou 27% com a inclusão do extrato taninífero de acácia negra, em comparação aos controle e óleo essencial de orégano. O termo CLA refere-se à mistura dos isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico (ANDRADE et al., 2012). Dentre os isômeros, o *cis*-9, *trans*-11, conhecido como ácido rumênico, é o que apresenta predominância em produtos de origem animal, como a carne e o leite (STANTON et al., 2003).

O graxo alfa linoleico é o precursor de todos os ácidos graxos de cadeia longa do ômega 3, que apresentou uma tendência no aumento em 20% para o óleo essencial de orégano e 18% no extrato taninífero, quando comparados ao tratamento controle. Os ácidos graxos da série ômega 3 são extremamente importantes para a saúde humana. Eles auxiliam na prevenção de problemas cardiovasculares pelo fato de produzir eicosanoides com baixo poder inflamatório que controlam o estreitamento da luz arterial por deposição de gordura na parede dos vasos sanguíneos. Essa lesão na parede da artéria estimula a formação de coágulos, podendo levar a formação de trombos com agregação de plaquetas estimuladas pelos eicosanoides inflamatórios e vasoconstrição (MARTIN et al., 2006). Além de seu papel nutricional na dieta, os ácidos graxos ômega 3 podem ajudar a prevenir uma série de doenças, incluindo doenças do coração, câncer, artrite, depressão, mal de Alzheimer, também atua na redução do colesterol sanguíneo (MORAES, COLLA, 2006).

O óleo essencial de orégano aumentou o ácido graxo docosahexaenóico (C22:6 n-3 DHA) em 13%, em relação aos demais tratamentos. Um dos mais importantes ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de cadeia longa, naturalmente presentes em produtos de origem marinha é o ácido docosahexaenóico (DHA; C22:6). Na espécie humana, os tecidos que têm a capacidade de biossintetizar DHA são o fígado, as gônadas, e em menor escala, o cérebro e o tecido adiposo, e o fazem a partir do precursor ácido alfa-linolênico, através de sistemas enzimáticos de alongamento e dessaturação, ainda que a velocidade

desta transformação seja muito lenta, principalmente quando a dieta é rica em ácido linoléico, que compete pelas mesmas dessaturases (HAAG, 2003)

O DHA tem importante função na formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina, sendo predominante na maioria das membranas celulares desses órgãos. Na retina, encontra-se ligado aos fosfolipídios que estão associados à rodopsina, uma proteína que interage no processo de absorção da luz. Seu mecanismo de ação possivelmente está relacionado com o aumento na eficiência do processo de transdução da luz e com a regeneração da rodopsina. A diminuição dos níveis desse ácido graxo nos tecidos da retina tem sido associada, em recém-nascidos, com anormalidades no desenvolvimento do sistema visual, e em adultos, com a diminuição da acuidade visual (SANGIOVANNI; CHEW, 2005). O cérebro humano tem um alto requerimento por DHA, baixos níveis desse ácido graxo, podem levar a diminuição nos níveis de serotonina no cérebro, o que está ligado a um aumento na tendência a depressão e suicídio (SIMOPOULOS, 2002).

Apesar do ácido esteárico (C18:0) não diferir entre os tratamentos, houve uma redução no teor do ácido oleico 18:1 *cis* 9 na carne em 10% no tratamento extrato de acácia e 6% no óleo essencial de orégano. Assim como o ácido rumênico não foi alterado, e o ácido vacênico uma tendência em aumentar com a inclusão do extrato taninífero. Muitos ácidos graxos de cadeia longa são formados no tecido, onde a enzima delta-9-dessaturase utiliza o ácido vacênico (18:1 *trans*11) como precursor na formação do ácido linoleico conjugado e o ácido esteárico (18:0) para a formação do ácido oleico (18:1 *cis*-9) conforme Bauman e Griinari (2001). Assim, possivelmente houve influência do extrato taninífero sobre a ação da delta-9-dessaturase no tecido.

Os taninos interferem no metabolismo proteico e lipídico no rúmen, podendo modificar algumas vias metabólicas alterando indiretamente o mecanismo regulador responsável pela expressão proteica da delta-9-dessaturase (MAKKAR et al., 1995; VASTA et al., 2009). Os taninos, dependendo da sua concentração na dieta, podem melhorar ou reduzir a absorção de aminoácidos. Por outro lado, estudo sobre porcos demonstrou que o nível da proteína dietética é um importante regulador da expressão proteica de delta-9-dessaturase (DORAN et al., 2006). Assim, Vasta et al. (2009) relata que os taninos podem regular indiretamente a expressão da enzima delta-9-dessaturase nos tecidos via modulação da absorção de ácidos graxos do rúmen, resultando em alterações na composição de ácidos graxos nos tecidos, o que indica que as concentrações de

CLA podem não ser refletidas nos tecidos. O mecanismo de ação dos taninos sobre a expressão da Δ^9 -dessaturase ainda não é clara.

3.5 Conclusão

O óleo essencial de orégano deixa a carne mais luminosa e aumenta o teor de DHA na carne de cordeiros. O extrato taninífero de acácia negra pode atuar como um antioxidante natural, aumenta o teor de CLA total e tende a aumentar o teor ômega 3, e tem um possível efeito na redução da atividade da Δ^9 -dessaturase, reduzindo o teor de ácido oleico.

Referência bibliográficas

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION – AMSA. Research guidelines for cookery, sensory evaluation and instrumental tenderness measurements of meat. Champaign, 2015, 105 p.

AOAC International. Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, USA. 2000.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**. Roma. v.70, p.15-29, 2001.

BENCHAAR, C.; CHOUINARD, P. Y. Assessment of the potential of cinnamaldehyde, condensed tannins, and saponins to modify milk fatty acid composition of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3392–3396, 2009.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911, 1959.

CAMPO, M. M., et al. Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, v.72, p.303–311, 2006.

DESCALZO, A. M.; SANCHO, A. M. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. **Meat Science**, v. 79, p. 423–436. 2008.

DORAN, O. et al. A reduced protein diet induces stearyl-CoA desaturase protein expression in pig muscle but not in subcutaneous adipose tissue: Relationship with intramuscular lipid formation. **British Journal of Nutrition**, v. 95, p. 609–617, 2006.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. Disponível em: http://www.fao.org/ag/againfo/home/en/news_archive/2017_More_Fuel_for_the_Food_Feed.html

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497, 1957.

HAAG, M. Essential Fatty Acids and the Brain. **The Canadian Journal of Psychiatry**. v. 48, p.195-203, 2003.

HAUTRIVE, T. P., MARQUES, A. C.; KUBOTA, E. H. Avaliação da composição centesimal, colesterol e perfil de ácidos graxos de cortes cárneos comerciais de avestruz, suíno, bovino e frango. **Alimentação e Nutrição**. v. 23, n. 2, p. 327-334, 2012.

JONES, G. A. et al. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 1374–1378, 1994.

KARAMI, M. Effects of dietary antioxidants on the quality, fatty acid profile, and lipid oxidation of longissimus muscle in Kacang goat with aging time. **Meat Science**, v. 88, p. 102–108, 2011.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1 ed. Santa Maria: UFSM. 2002, 140 p.

KRAMER, J.K.G., et al. Distributions of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid classes of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography and silver ion high-performance liquid chromatography. **Lipids**, v.33, p. 549-558, 1998.

KRAMER, J.K.G., et al. Combining results of two GC separations partly achieves determination of all cis and trans 16:1, 18:1, 18:2 and 18:3, except CLA isomers of milk fat as demonstrated using Ag-ion SPE fractionation. **Lipids**, v.43, p. 259-273, 2008.

MAKKAR, H. P. S.; BLÜMMEL, M.; BOROWY, N. K.; BECKER, K. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. **Journal of Science and Food Agriculture**, v.61, p.161-165, 1993.

MAKKAR, H. P. S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v.49, p.241-256, 2003.

MAKKAR, H. P. S. et al. In vitro effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. **Journal of the Science of Food Agriculture**, v. 69, p. 481–493, 1995.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**. Campinas. v.19, p.761-770, 2006

MOLAN, A.L. et al. The effect of condensed tannins from *Lotus pedunculatus* and *Lotus corniculatus* on the growth of proteolytic rumen bacteria *in vitro* and their possible mode of action. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 626–633. 2001

MONTE, A. L. S., et al. Parâmetros físicos e sensoriais de qualidade da carne de cabritos mestiços de diferentes grupos genéticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.27, n.2, p.233-238, 2007.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, Legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Passo Fundo, vol.3, n.2, p.109-122, 2006.

MORTON, J. D., et al. Calpain– calpastatin and toughness in M. longissimus from electrically stimulated lamb and beef carcasses. **Meat Science**, v.52, n.1, p.71-79, 1999.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Sheep**. 6th Ed. National Academy of Sciences, Washington, DC. 1985.

OLIVEIRA, R.C. e IGARASI, M.S. Utilização de óleos essenciais na mitigação da metanogênese. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 6, Ed. 229, Art. 1515, Março, 2013.

OMS - Organização Mundial da Saúde. **Doenças não transmissíveis**. Disponível em: <<http://www.who.int/gho/ncd/en/>>. Acesso em: 06 de agosto de 2015.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. GO: CECRAF-UFG, 1995. 586p.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PINHEIRO, R. S. B., et al. Qualidade de carnes provenientes de cortes da carcaça de cordeiros e de ovinos adultos. **Revista Brasileira de Zootecnista**, v.38, n.9, p.1790-1796, 2009.

PRATA, A. K. Exploring the benefits of feeding tannin containing diets for enhancing the nutritional values of milk and meat of ruminants. **The Indian Journal of Animal Sciences**, v. 53, n. 2, p. 63-76, 2014.

SANGIOVANN, J. P, CHEW, E. Y. The role of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 24, n.1, p. 87-138, 2005.

SILVA SOBRINHO, A.G. et al. Características de qualidade da carne de ovinos de diferentes genótipos e idades ao abate. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.1070-1078, 2005.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds. **Asia Pacific Journal Clinical Nutrition**. v. 11, p.163-73, 2002.

SORENSEN, G.; JORGENSEN, S. S. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. **Z Lebensm. Unters. Forsch**, v. 202, p. 205 – 210, 1996.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. **Livestock Production Science**, v. 77, n. 2/3, p. 187-194, 2002.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS. Statistical analysis user's guide. Version 8.2. Cary, 2001. 1686 p.

ULBRICHT, T. L. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, v. 338, n. 8773, p. 985-992, 1991.

VASTA V, M., et al. Ruminal biohydrogenation as affected by tannins *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v.102, p.82–92, 2009.

VASTA V. 9 desaturase protein expression and fatty acid composition of longissimus dorsi muscle in lambs fed green herbage or concentrate with or without added tannins. **Meat Science**, v. **82**, p. 357–364, 2009.

WELTER, K. C. **Efeito da inclusão de óleo de canola na dieta de vacas em lactação. Pirassununga, SP.** 2015. 66. Tese (Mestrado em Zootecnia – Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

WOOD, J. D. et al. Manipulating meat quality and composition. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, p. 363–370, 1999.

WORLD CANCER RESEARCH FUND. Food, Nutrition, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. Washington, DC: American Institute for Cancer Research, 987p, 2007.