Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Óleos essenciais de laranja e *Arnica montana* como aditivos alimentares para ovinos

Paulo César Gonzales Dias Junior

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2023

Paulo César Gonzales Dias Junior
Bacharel em Zootecnia

Óleos essenciais de laranja e *Arnica montana* como aditivos alimentares para ovinos

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **EVANDRO MAIA FERREIRA**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Dias Junior, Paulo César Gonzales

Óleos essenciais de laranja e *Arnica montana* como aditivos alimentares para ovinos / Paulo César Gonzales Dias Junior. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011.- - Piracicaba, 2023.

177 p.

Tese (Doutorado) - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Aditivo 2. Cordeiros 3. Óleo essencial 4. Monensina sódica I. Título

DEDICATÓRIA

Dedico,

Aos meus pais, Paulo César Gonzales Dias e Janete Catalano Viégas Dias por sempre estarem presentes, apoiando, incentivando e não medindo esforços para que eu pudesse realizar meus sonhos.

Ao meu avô Antônio Gonzalez Diaz (*in memoriam*) por ser o grande protagonista da minha escolha pela Zootecnia.

À minha avó Emilia Catalano Viégas (*in memoriam*) pelo amor incondicional, exemplo de fé e serenidade.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida concedida para poder chegar até aqui.

Aos meus pais, Paulo César Gonzales Dias e Janete Catalano Viégas Dias, pelo amor incondicional, perseverança, cumplicidade e temor a Deus.

Ao meu irmão Matheus Gonzales Dias pela amizade.

Aos meus avós João Viégas e Alice Croco Dias por todo amor.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, por proporcionar excelentes condições de trabalho na condução dessa pesquisa.

Aos professores do Departamento de Zootecnia, por contribuírem com minha formação cientifica e pessoal.

Ao Prof. Dr. Evandro Maia Ferreira, pela orientação, confiança e ensinamentos transmitidos ao longo desses anos.

À Prof. Dra. Iraides Ferreira Furusho Garcia e ao Dr. Rafael Canonenco de Araujo, por todo suporte como membros do Comitê de orientação.

À Prof. Dra. Carla Maris Machado Bittar, pela coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens e pela orientação no Programa de Aperfeiçoamento ao ensino – PAE na disciplina de Produção Animal II.

À CAPES, pela concessão da bolsa durante o doutorado.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro para condução do projeto com óleo essencial de arnica (Processo n.º 427430/2018-6).

À FAPESP, pelo auxílio financeiro para condução do projeto com óleo essencial de laranja (Processo n.º 2021/01733-8).

Ao Daniel Polizel, por sempre estar disponível em ajudar e pelos ensinamentos transmitidos.

Aos membros do SIPOC, Isabela, Adrielly, Matheus (PPK), Letícia, Carol, Natalia, Rhaíssa, Jennifer, Nathália, Brenda, Bela, Teresinha, Jamile, Janaina, Ana e Taís, pelos momentos compartilhados e por toda ajuda na condução dos experimentos.

Aos funcionários do SIPOC, Sr. Roberto, Sr. Marcus, Adilson (Zica) e Joseval, por toda ajuda e amizade.

À Luciana do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA/ESALQ), por todo suporte ao longo das análises laboratoriais e amizade.

À Regina do Laboratório Óleos e Gorduras (LAN/ESALQ), pela ajuda durante as análises de perfil de ácidos graxos da carne.

A todos que não foram mencionados, mas que contribuíram para que esse trabalho se concretizasse.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA

Paulo César Gonzales Dias Junior, filho de Paulo César Gonzalez Dias e Janete Catalano Viégas Dias, nascido em 10 de junho de 1992, é natural de Americana – SP. Ingressou na graduação em Zootecnia pela Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG em agosto de 2010, concluindo a graduação em abril de 2016. Em fevereiro de 2017 iniciou o Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, na área de Produção e Nutrição de Ruminantes. Em fevereiro de 2019 iniciou o Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens da Escola Superior de Agricultura “Luiz e Queiroz” – ESALQ-USP.

EPÍGRAFE

"Enquanto houver vontade de lutar haverá esperança de vencer"

Santo Agostinho

SUMÁRIO

RESUMO 11
ABSTRACT 13
LISTA DE FIGURAS 15
LISTA DE TABELAS 16
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS 18
1 Introdução 21
REFERÊNCIAS 23
2 Revisão de literatura 25
2.1 UTILIZAÇÃO DE DIETAS COM ELEVADO TEOR DE CONCENTRADO 25
2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS 27
2.3 UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS 28
2.4 MODO DE AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO AMBIENTE RUMINAL 29
2.5 EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO RÚMEN 31
2.6 EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE O DESEMPENHO 35
2.7 EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE O METABOLISMO LIPÍDICO E O PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE 37
2.8 ÓLEO ESSENCIAL DE *ARNICA MONTANA* 39
2.9 ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA 40
2.10 MONENSINA 42
REFERÊNCIAS 46
3 Óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) em dietas para cordeiros em terminação: consumo e digestibilidade dos nutrientes, balanço de nitrogênio e características de fermentação ruminal 58
Resumo 58
Abstract 59
3.1 INTRODUÇÃO 60
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS 61
3.2.1 Animais e instalações experimentais 61
3.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar 61
3.2.3 Manejo alimentar e colheita de amostras 64
3.2.4 Digestibilidade aparente dos nutrientes 64
3.2.5 Balanço de nitrogênio 65
3.2.6 Colheita de fluido ruminal 65
3.2.7 Análises laboratoriais e cálculos 65
3.2.8 Caracterização dos compostos presentes no óleo essencial 67
3.2.9 Análise estatística 68
3.3 RESULTADOS 68
3.3.1 Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes 68
3.3.2 Balanço de nitrogênio 71
3.3.3 Características de fermentação ruminal 73
3.4 DISCUSSÃO 75

3.4.1 Consumo de nutrientes e digestibilidade *75*
3.4.2 Balanço de nitrogênio *76*
3.4.3 Características de fermentação ruminal *76*
3.5 CONCLUSÃO 77

REFERÊNCIAS 78

4 Óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) em dietas para cordeiros em terminação: desempenho, comportamento ingestivo, características de carcaça, morfologia do epitélio ruminal e perfil de ácidos graxos da carne 81

Resumo 81

Abstract 82

4.1 INTRODUÇÃO 83
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS 84
4.2.1 Local, animais e instalações experimentais *84*
4.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo experimental *84*
4.2.3 Comportamento ingestivo *88*
4.2.4 Abate dos animais e características de carcaça *89*
4.2.5 Avaliação morfológica do epitélio ruminal *90*
4.2.6 Análises laboratoriais *90*
4.2.7 Determinação do perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional *91*
4.2.8 Caracterização dos compostos presentes no óleo essencial *92*
4.2.9 Análise estatística *93*
4.3 RESULTADOS 94
4.3.1 Desempenho e características de carcaça *94*
4.3.2 Comportamento ingestivo *96*
4.3.3 Caracterização do epitélio ruminal *98*
4.3.4 Perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional *100*
4.4 DISCUSSÃO 103
4.4.1 Desempenho e características de carcaça *103*
4.4.2 Comportamento ingestivo *105*
4.4.3 Avaliação morfológica do epitélio ruminal *106*
4.4.4 Perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional *107*
4.5 CONCLUSÃO 108

REFERÊNCIAS 108

5 Efeitos do óleo essencial de *Arnica montana* sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, fermentação ruminal e retenção de nitrogênio em cordeiros confinados 113

5.1 INTRODUÇÃO 115
5.2 MATERIAL E MÉTODOS 116
5.2.1 Animais e instalações experimentais *116*
5.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar *117*
5.2.3 Manejo alimentar e colheita de amostras *119*
5.2.4 Digestibilidade aparente dos nutrientes *119*
5.2.5 Balanço de nitrogênio *120*
5.2.6 Colheita de fluido ruminal *120*

5.2.7 Análises laboratoriais e cálculos ... *120*
5.2.8 Caracterização dos compostos presentes no óleo essencial ... *122*
5.2.9 Análise estatística ... *123*
5.3 RESULTADOS ... 124
5.3.1 Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes ... *124*
5.3.2 Balanço de Nitrogênio ... *126*
5.3.3 Características de fermentação ruminal ... *128*
5.4 DISCUSSÃO ... 130
5.4.1 Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes ... *130*
5.4.2 Balanço de nitrogênio ... *132*
5.4.3 Características de fermentação ruminal ... *133*
5.5 CONCLUSÃO ... 134

REFERÊNCIAS ... 135

6 Efeitos do óleo essencial de *Arnica montana* no desempenho, comportamento ingestivo, características de carcaça, morfologia do epitélio ruminal e perfil de ácidos graxos da carne em cordeiros confinados ... 140

Resumo ... 140

Abstract ... 141

6.1 INTRODUÇÃO ... 142
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS ... 143
6.2.1 Local, animais e instalações experimentais ... *143*
6.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo experimental ... *144*
6.2.3 Comportamento ingestivo ... *147*
6.2.4 Abate dos animais e características de carcaça ... *147*
6.2.5 Avaliação morfológica do epitélio ruminal ... *148*
6.2.6 Análises laboratoriais ... *149*
6.2.7 Determinação do perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional ... *150*
6.2.8 Caracterização dos compostos presentes no óleo essencial ... *151*
6.2.9 Análise estatística ... *152*
6.3 RESULTADOS ... 153
6.3.1 Desempenho e características de carcaça ... *153*
6.3.2 Comportamento ingestivo ... *155*
6.3.3 Caracterização do epitélio ruminal ... *158*
4.5.1 Perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional ... *160*
6.4 DISCUSSÃO ... 163
6.4.1 Desempenho e características de carcaça ... *163*
6.4.2 Comportamento ingestivo ... *165*
6.4.3 Caracterização macroscópica do epitélio ruminal ... *166*
6.4.4 Perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional ... *167*
6.5 CONCLUSÃO ... 170

REFERÊNCIAS ... 171

RESUMO

Óleos essenciais de laranja e *Arnica montana* como aditivos alimentares para ovinos

Foram conduzidos quatro experimentos com cordeiros confinados recebendo dietas com 90% de concentrado com o objetivo de avaliar os efeitos dos óleos essenciais de laranja (OEL) e *Arnica montana* (OEAM) sobre a fermentação ruminal, o desempenho e o perfil de ácidos graxos da carne. A hipótese é que os óleos essenciais estudados tenham capacidade de modular os produtos da fermentação ruminal, melhorar o desempenho e o perfil de ácidos graxos da carne, similarmente a monensina sódica. **Experimento 1:** Foram utilizados 10 cordeiros, canulados no rúmen, distribuídos em delineamento em quadrado latino duplo (5 x 5). Os tratamentos experimentais foram: **L0** – controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo); **L100** – inclusão de 100 mg de OEL/kg de MS; **L500** – 500 mg de OEL/kg de MS; **L1000** – 1000 mg de OEL/kg de MS; **M25** – controle positivo (25 mg de monensina sódica /kg de MS). O aumento nos teores de OEL na dieta não afetou o consumo de nutrientes. Porém, a inclusão de OEL aumentou o consumo de MS, MO, PB, FDN, CNF e NDT em relação à M25. O aumento nos teores de OEL reduziu linearmente a digestibilidade do CNF, mas não alterou a digestibilidade dos demais nutrientes. A digestibilidade do CNF foi maior nas dietas contendo OEL em comparação à M25. A dieta M25 teve menor digestibilidade do CNF que L0. As dietas com OEL tiveram maior consumo e absorção de nitrogênio (N) em comparação à M25. O aumento nos teores de OEL não influenciaram a concentração total e a proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). A concentração total de AGCC foi menor para M25 em relação à L0. O pH ruminal e a concentração de amônia no rúmen não foram afetados pelos tratamentos experimentais. **Experimento 2:** Foram utilizados 40 cordeiros distribuídos em delineamento experimental em blocos completos casualizados. Os tratamentos experimentais foram os mesmos descritos para o Experimento 1. Houve aumento linear para o consumo de matéria seca (CMS), ganho de peso médio diário (GMD), eficiência alimentar (EA), peso corporal ao abate (PCA), peso de carcaça quente (PCQ), peso de carcaça fria (PCF) com o aumento nos teores de OEL. O tratamento M25 teve menor CMS, GMD e PCA em relação aos demais tratamentos. A inclusão de OEL na dieta promoveu aumento no somatório de ácidos graxos monoinsaturados, melhorou o índice de promoção à saúde humana (IPS) e reduziu o índice de trombogenicidade em relação à M25. As dietas com OEL tiveram maior relação entre os ácidos graxos da série n-6 e n-3 (n-6/n-3) comparado à M25. **Experimento 3:** Foram utilizados 5 cordeiros, canulados no rúmen, distribuídos em delineamento em quadrado latino (5 x 5). Os tratamentos experimentais foram: **A0** – controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo); **A450** – inclusão de 450 mg de OEAM/kg de MS; **A900** – 900 mg de OEAM/kg de MS; **A1350** – 1350 mg de OEAM/kg de MS; **M25** – controle positivo (25 mg de monensina sódica/kg de MS). Os teores crescentes de OEAM não afetaram o consumo de nutrientes, mas aumentaram linearmente a digestibilidade da proteína bruta. As dietas com OEAM tiveram maior CMS em relação à M25. Por sua vez, M25 teve menor CMS que A0. A digestibilidade dos nutrientes não diferiu na comparação entre M25 *vs.* A0 e OEAM *vs.* M25. O aumento nos teores de OEAM conferiu redução linear de N na urina, o que foi associado a redução linear na concentração de amônia no rúmen. As dietas com OEAM proporcionaram maior retenção de N em relação à M25. Houve efeito quadrático na proporção molar de acetato para o aumento de OEAM na dieta, com menor valor para A450. Dietas com

OEAM tiveram menor pH ruminal em relação à M25. A dieta M25 proporcionou maior pH ruminal que A0. **Experimento 4:** Foram utilizados 40 cordeiros distribuídos em delineamento experimental em blocos completos casualizados. Os tratamentos experimentais foram os mesmos descritos para o Experimento 3. O aumento nos teores de OEAM conferiu efeito quadrático sobre o CMS, com maior CMS para o tratamento A450. Houve aumento linear no GMD, PCA, PCQ e PCF. A dieta M25 prejudicou o desempenho dos cordeiros quando comparada aos teores de OEAM e A0. Os teores de OEAM promoveram aumento linear no tempo de ingestão, e efeito quadrático no tempo de ruminação, mastigação e ingestão de água. Na comparação entre os teores de OEAM e M25, houve maior tempo de ruminação e mastigação, e menor tempo em ócio e de ingestão de água para as dietas com OEAM. O aumento na inclusão de OEAM reduziu a proporção de C6:0; C17:0; C18:0; C18:1 *trans*-11, C22:6 n-3 e o somatório de ácidos graxos saturados. Como também, aumentou linearmente a concentração de C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, o somatório dos ácidos graxos poli-insaturados e o somatório dos n-6 (Σn-6). As dietas com OEAM reduziram a proporção de C16:0, C17:0, C18:0 e aumentaram a proporção de C18:2 *cis*-9, cis-12, o somatório dos ácidos graxos saturados, o Σn-6 e a relação n-6/n-3 quando comparadas à M25. A utilização de OEAM melhorou o valor nutricional da gordura da carne de cordeiro, tendo como base a redução na proporção hipocolesterolêmico/hipercolesterolêmico (h/H) e aumento no IPS.

Palavras-chave: Aditivo, Desempenho, Metabolismo, Monensina, Ovino

ABSTRACT

Essential oils of orange and *Arnica montana* as feed additives for sheep

Four experiments were conducted with feedlot lambs receiving diets containing 90% concentrate, with the objective of evaluating the effects of the essential oils of orange (OEO) and Arnica montana (AMEO) on rumen fermentation, performance, and meat fatty acid profile. The hypothesis is that the essential oils studied can modulate rumen fermentation products, and improve performance and meat fatty acid profile, similar to sodium monensin. **Experiment 1:** Ten lambs were used, cannulated in the rumen, and distributed in a double Latin square design (5 x 5). The experimental treatments were: **L0** - negative control (diet without additive inclusion); **L100** - inclusion of 100 mg OEO/kg DM; **L500** - 500 mg OEO /kg DM; **L1000** - 1000 mg OEO/kg DM; **M25** - positive control (25 mg sodium monensin /kg DM). Increasing the OEO content in the diet did not affect nutrient intake. However, the inclusion of OEO increased the intake of DM, OM, CP, NDF, NFC, and TDN relative to M25. The increase in OEO contents linearly reduced the digestibility of NFC but did not change the digestibility of the other nutrients. The NFC digestibility was higher in diets containing OEO compared to M25. The M25 diet had lower NFC digestibility than L0. Diets containing OEO had higher intake and uptake of nitrogen (N) compared to M25. Increased OEO content did not influence the total concentration and molar ratio of short-chain fatty acids (SCFA). The total concentration of SCFA was lower for M25 compared to L0. Rumen pH and ammonia concentration in the rumen were not affected by the experimental treatments. **Experiment 2:** Forty lambs were used in a randomized complete block design. The experimental treatments were the same as described in Experiment 1. There was a linear increase in dry matter intake (DMI), average daily weight gain (ADG), feed efficiency (FE), body weight at slaughter (BWS), hot carcass weight (HCW), cold carcass weight (CCW) with increasing OEO contents. The M25 treatment had lower DMI, ADG, and BWS compared to the other treatments. The inclusion of OEO in the diet promoted an increase in the sum of monounsaturated fatty acids, improved the human health promotion index (HPI), and reduced the thrombogenicity index relative to M25. Diets with OEO had a higher ratio of n-6 to n-3 series fatty acids (n-6/n-3) compared to M25. **Experiment 3:** Five lambs, cannulated in the rumen, were used, and distributed in a Latin square design (5 x 5). The experimental treatments were: **A0** - negative control (diet without additive inclusion); **A450** - inclusion of 450 mg AMEO/kg DM; **A900** - 900 mg AMEO/kg DM; **A1350** - 1350 mg AMEO/kg DM; M25 - positive control (25 mg sodium monensin/kg DM). The increasing levels of AMEO did not affect nutrient intake but linearly increased crude protein digestibility. The diets with AMEO had higher DMI compared to M25. In turn, M25 had a lower DMI than A0. Nutrient digestibility did not differ when comparing M25 *vs*. A0 and OEAM *vs*. M25. The increase in AMEO levels conferred a linear reduction of N in urine, which was associated with a linear reduction in ammonia concentration in the rumen. Diets with AMEO provided higher N retention compared to M25. There was a quadratic effect on the molar acetate ratio for increasing AMEO in the diet, with the lowest value for A450. Diets with AMEO had lower rumen pH compared to M25. The M25 diet provided higher rumen pH than A0. **Experiment 4:** Forty lambs were used and distributed in a randomized complete block design. The experimental treatments were the same as described in Experiment 3. The increase in AMEO content conferred a quadratic effect on the DMI, with a higher DMI for the A450. There was a linear increase in ADG, BWS,

HCW, and CCW. The M25 diet impaired lamb performance when compared to AMEO and A0. The AMEO contents promoted a linear increase in the ingestion time, and a quadratic effect in rumination time, chewing, and water ingestion. In the comparison between AMEO and M25, there were longer rumination and chewing times, and shorter idle time and water intake for diets with AMEO. The increase in AMEO inclusion reduced the proportion of C6:0; C17:0; C18:0; C18:1 *trans*-11, C22:6 n-3, and the sum of saturated fatty acids. As well, it linearly increased the concentration of C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, the sum of polyunsaturated fatty acids and the sum of n-6 (Σn-6). The diets with AMEO reduced the proportion of C16:0, C17:0, C18:0 and increased the proportion of C18:2 *cis*-9, *cis*-12, the sum of saturated fatty acids, Σn-6 and the n-6/n-3 ratio when compared to M25. The use of AMEO improved the nutritional value of lamb meat fat, based on the reduction in the hypocholesterolemic/hypercholesterolemic (h/H) ratio and an increase in HPI.

Keywords: Additive, Performance, Metabolism, Monensin, Sheep

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Arnica montana (Fonte: Maftei, 2019) 39

Figura 2. A) Estrutura da monensina (Chapman et al., 2010). B) Conformação da monensina quando ligada a um cátion (Chapman et al., 2010). C) Diagrama esquemático mostrando os efeitos hipotéticos da monensina (M) no fluxo iônico em Streptococcus bovis, adaptado de Russell e Strobel (1988). 43

Figura 3. Variação da concentração de amônia ruminal ($N\text{-}NH_3$) após a alimentação de cordeiros recebendo dietas contendo monensina sódica ou teores crescentes de óleo essencial de arnica (OEAM). A0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); A450: 450 mg de OEAM/kg de MS; A900: 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350: 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25: 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). * Letras diferentes para a mesma hora de colheita diferem pelo teste de Tukey a 5%. EPM = 0,69. 130

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais (% da MS).1.....63

Tabela 2. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais (% da MS). 64

Tabela 3. Composição do óleo essencial de laranja. 67

Tabela 4. Consumo e digestibilidade aparente de nutrientes por cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. 70

Tabela 5. Balanço de nitrogênio em cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. 72

Tabela 6. Parâmetros de fermentação ruminal de cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. 744

Tabela 7. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais (% da MS). 86

Tabela 8. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais (% da MS). 87

Tabela 9. Composição do óleo essencial de laranja. 92

Tabela 10. Desempenho e características de carcaça de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. .. 95

Tabela 11. Comportamento ingestivo de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. 97

Tabela 12. Caracterização macroscópica do epitélio ruminal de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. 99

Tabela 13. Perfil de ácidos graxos (% FAME) do músculo *Longissimus lumborum* de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. *(continua)* 101

Tabela 13. Perfil de ácidos graxos (% FAME) do músculo *Longissimus lumborum* de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. (*conclusão)* 102

Tabela 14. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais (% da MS)..... 118

Tabela 15. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais (% da MS). 119

Tabela 16. Composição do óleo essencial de arnica utilizado no experimento..... 122

Tabela 17. Consumo e digestibilidade aparente de nutrientes por cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de arnica montana (OEAM) ou monensina sódica. 125

Tabela 18. Balanço de nitrogênio em cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de arnica montana (OEAM) ou monensina sódica. ..127

Tabela 19. Parâmetros de fermentação ruminal de cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de arnica montana (OEAM) ou monensina sódica. 129

Tabela 20. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais (% MS). 145

Tabela 21. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais (% da MS). 146

Tabela 22. Composição do óleo essencial de arnica utilizado no experimento. 151

Tabela 23. Desempenho e características de carcaça de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de arnica montana (OEAM) ou monensina sódica. 154

Tabela 24. Comportamento ingestivo de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de arnica montana (OEAM) ou monensina sódica. ..157

Tabela 25. Caracterização macroscópica do epitélio ruminal de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de arnica montana (OEAM) ou monensina sódica. 159

Tabela 26. Perfil de ácidos graxos (% FAME) do músculo *Longissimus lumborum* de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de arnica montana (OEAM) ou monensina sódica. *(continua)*.....161

Tabela 26. Perfil de ácidos graxos (% FAME) do músculo *Longissimus lumborum* de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de arnica montana (OEAM) ou monensina sódica. *(conclusão)* 162

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A0 – Controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo)
A1350 – Dieta com inclusão de 1350 mg de óleo essencial de *Arnica montana*/kg de MS
A450 – Dieta com inclusão de 450 mg de óleo essencial de *Arnica montana*/kg de MS
A900 – Dieta com inclusão de 9000 mg de óleo essencial de *Arnica montana*/kg de MS
AGCC – Ácidos graxos de cadeia curta
AOL – Área de olho de lombo
ASA – Área de superfície absortiva
CFDN – Consumo de fibra em detergente neutro
CMS – Consumo de matéria seca
CNF – Carboidrato não fibroso
EE – Extrato etéreo
EGS – Espessura de gordura subcutânea
EM – Energia metabolizável
EPC – Espessura de parede corporal
EPM – Erro padrão da média
FDA – Fibra em detergente ácido
FDN – Fibra em detergente neutro
GMD – Ganho de peso médio diário
h/H – Relação hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos
IA – Índice de aterogenicidade
IPS – Índice de promoção à saúde humana
IT – Índice de trombogenicidade
L0 – Controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo)
L100 – Dieta com inclusão de 100 mg de óleo essencial de laranja/kg de MS
L1000 – Dieta com inclusão de 1000 mg de óleo essencial de laranja/kg de MS
L500 – Dieta com inclusão de 500 mg de óleo essencial de laranja/kg de MS
M25 – Controle positivo (dieta com inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS)
MM – Matéria mineral
MO – Matéria orgânica
MS – Matéria seca
MUFA – Ácido graxo monoinsaturado
N – NH_3 – Nitrogênio amoniacal
n-3 – Ácidos graxos da série ômega 3
n-6 – Ácidos graxos da série ômega 6

NDT – Nutrientes digestíveis totais

OEAM – Óleo essencial de *Arnica montana*

OEL – Óleo essencial de laranja

PB – Proteína bruta

PCA – Peso corporal ao abate

PCF – Peso de carcaça fria

PCQ – Peso de carcaça quente

PR – Perda por resfriamento

PUFA – Ácidos graxos poli-insaturados

RCF – Rendimento de carcaça fria

RCQ – Rendimento de carcaça quente

SFA – Ácido graxo saturado

1 INTRODUÇÃO

A monensina sódica por modular a fermentação ruminal, melhorar o desempenho e a eficiência alimentar, é o principal aditivo ionóforo utilizado em dietas de animais ruminantes (Silvestre; Millen, 2021). No entanto, por ser um antibiótico, sua utilização e de outros aditivos ionóforos passou a ser questionada na alimentação animal (Abadi et al., 2019) devido ao risco de resistência aos antibióticos utilizados na medicina humana. Nesse cenário, a comunidade científica passou a buscar moléculas alternativas que proporcionem efeitos semelhantes aos ionóforos, que sejam seguras ao consumo humano e aceitas pela sociedade consumidora (Ben et al., 2019; He et al., 2020).

Dentre as possibilidades naturais destacam-se os óleos essenciais. Essas substâncias possuem aparência oleosa e são compostas por moléculas voláteis e aromáticas, as quais são formadas no metabolismo secundário das plantas e podem ser encontradas nas diferentes partes das mesmas. Nos óleos essenciais são encontrados majoritariamente dois grupos químicos, os terpenóides e os fenilpropanóides (Calsamiglia et al., 2007). Esses compostos possuem propriedades antimicrobianas, antioxidantes, antifúngicas e antiparasitárias, e dessa forma têm demostrado grande potencial como aditivos alimentares na nutrição de ruminantes.

Os óleos essenciais, devido ao seu potencial em modular a fermentação ruminal podem reduzir a produção de metano, a relação acetato:propionato e a produção de amônia. Essas alterações tornam o rúmen energeticamente mais eficiente e melhoram a eficiência na utilização dos nutrientes da dieta, possibilitando melhor desempenho animal (Andri et al., 2020; Calsamiglia et al., 2007). A maioria das pesquisas conduzidas até o momento avaliaram os efeitos dos óleos essenciais em experimentos *in vitro*. Porém, o número de pesquisas *in vivo* torna-se mais recorrente (Nehme et al., 2021; Torres et al., 2021, 2020). O aumento nas pesquisas *in vivo* decorre da necessidade do conhecimento sobre as melhores doses, como também as interações dos óleos essenciais com a dieta e o ambiente ruminal, uma vez que as doses praticadas *in vitro* parecem não ser aplicáveis em estudos *in vivo*.

Estima-se que mais de 3.000 tipos de óleos essenciais sejam conhecidos, desses cerca de 300 possuem importância comercial e são relevantes economicamente (Calsamiglia et al., 2007). Dentre os óleos essenciais, pode-se destacar o óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) e o óleo essencial de *Arnica*

montana, os quais demostram grande potencial de uso na medicina humana e na formulação de cosméticos (Geraci et al., 2017; Sugier et al., 2019). Na alimentação de ruminantes, o óleo essencial de laranja utilizado como aditivo alimentar demostrou efeitos promissores sobre a fermentação ruminal e o desempenho animal (Crane et al., 1957; Kotsampasi et al., 2018; Samii et al., 2016). No entanto, os trabalhos disponíveis destacam a necessidade de mais pesquisas com o óleo essencial de laranja para que se possa fazer uma recomendação mais precisa. Quanto ao óleo essencial de *Arnica montana*, não são encontrados relatos sobre sua utilização como aditivo para ruminantes, mas devido ao potencial antimicrobiano desse óleo sobre bactérias Gram-positivas (Kriplani et al., 2017), acredita-se que ele possa desempenhar função semelhante a monensina sódica sobre o metabolismo ruminal e o desempenho animal. Além disso, não há informações disponíveis na literatura sobre a utilização desses óleos essenciais em dietas com elevada inclusão de concentrado para cordeiros.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de diferentes teores de óleo essencial de laranja e óleo essencial de *Arnica montana* em substituição à monensina sódica em dietas contendo 90% de concentrado, sobre as características de fermentação ruminal, o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, o balanço de nitrogênio, o ganho de peso, as características de carcaça, o comportamento ingestivo, a morfologia do epitélio ruminal e o perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros terminados em confinamento.

REFERÊNCIAS

Abadi, A.T.B., Rizvanov, A.A., Haertlé, T., Blatt, N.L., 2019. World Health Organization Report: Current Crisis of Antibiotic Resistance. Bionanoscience 9, 778–788. https://doi.org/10.1007/s12668-019-00658-4.

Andri, F., Huda, A.N., Marjuki, M., 2020. The use of essential oils as a growth promoter for small ruminants: A systematic review and meta-analysis. F1000Research 9, 1–11. https://doi.org/10.12688/f1000research.24123.1.

Ben, Y., Fu, C., Hu, M., Liu, L., Wong, M.H., Zheng, C., 2019. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. Environ. Res. 169, 483–493. https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.040.

Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A., 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. J. Dairy Sci. 90, 2580–2595. https://doi.org/10.3168/jds.2006-644.

Crane, A., Nelson, W.O., Brown, R.E., 1957. Effects of D-Limonene and α-D-Pinene on in Vitro Carbohydrate Dissimilation and Methane Formation by Rumen Bacteria. J. Dairy Sci. 40, 1317–1323.

Geraci, A., Di Stefano, V., Di Martino, E., Schillaci, D., Schicchi, R., 2017. Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity. Nat. Prod. Res. 31, 653–659. https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1219860.

He, Y., Yuan, Q., Mathieu, J., Stadler, L., Senehi, N., Sun, R., Alvarez, P.J.J., 2020. Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment. npj Clean Water 3, 1–11. https://doi.org/10.1038/s41545-020-0051-0.

Kotsampasi, B., Tsiplakou, E., Christodoulou, C., Mavrommatis, A., Mitsiopoulou, C., Karaiskou, C., Sossidou, E., Fragioudakis, N., Kapsomenos, I., Bampidis, V.A., Christodoulou, V., Zervas, G., 2018. Effects of dietary orange peel essential oil supplementation on milk yield and composition, and blood and milk antioxidant status of dairy ewes. Anim. Feed Sci. Technol. 245, 20–31. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.08.007.

Kriplani, P., Guarve, K., Baghael, U.S., 2017. Arnica montana L. – a plant of healing: review. J. Pharm. Pharmacol. 69, 925–945. https://doi.org/10.1111/jphp.12724.

Nehme, R., Andrés, S., Pereira, R.B., Jemaa, M.B., Bouhallab, S., Ceciliani, F., López, S., Rahali, F.Z., Ksouri, R., Pereira, D.M., Abdennebi-Najar, L., 2021. Essential oils in livestock: From health to food quality. Antioxidants 10, 1–42. https://doi.org/10.3390/antiox10020330.

Samii, S.S., Wallace, N., Nagaraja, T.G., Engstrom, M.A., Miesner, M.D., Armendariz, C.K., Titgemeyer, E.C., 2016. Effects of limonene on ruminal fusobacterium necrophorum concentrations, fermentation, and lysine degradation in cattle. J. Anim. Sci. 94, 3420–3430. https://doi.org/10.2527/jas.2016-0455.

Silvestre, A.M., Millen, D.D., 2021. The 2019 Brazilian Survey On Nutritional Practices Provided By Feedlot Cattle Consulting Nutritionists. Rev. Bras. Zootec. 50, 1–25. https://doi.org/10.37496/RBZ5020200189.

Sugier, D., Sugier, P., Jakubowicz-Gil, J., Winiarczyk, K., Kowalski, R., 2019. Essential oil from Arnica Montana L. Achenes: Chemical characteristics and anticancer activity. Molecules 24, 1–13. https://doi.org/10.3390/molecules24224158.

Torres, R.N.S., Moura, D.C., Ghedini, C.P., Ezequiel, J.M.B., Almeida, M.T.C., 2020. Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and performance of sheep. Small Rumin. Res. 189, 106148. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106148.

Torres, R.N.S., Paschoaloto, J.R., Ezequiel, J.M.B., da Silva, D.A.V., Almeida, M.T.C., 2021. Meta-analysis of the effects of essential oil as an alternative to monensin in diets for beef cattle. Vet. J. 272, 105659. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105659.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Utilização de dietas com elevado teor de concentrado

Dietas com elevada inclusão de concentrado favorecem o aumento do ganho médio diário de peso (GMD) e da eficiência alimentar (Carlis, 2021; Deng et al., 2012; Eckermann, 2021). Além disso, possibilitam a produção de carcaças com melhor conformação e acabamento (Brito et al., 2017; Gallo et al., 2014). É relatado também que a utilização dessas dietas não compromete as características sensoriais e a aceitabilidade da carne de cordeiro pelo consumidor (Gkarane et al., 2019; Sañudo et al., 2000).

Dietas com elevada inclusão de concentrado são baseadas majoritariamente pela inclusão de carboidratos não fibrosos, sendo o amido o principal carboidrato dessa fração. Nos confinamentos de bovinos de corte no Brasil, o principal ingrediente utilizado como fonte de amido é o milho (Silvestre; Millen, 2021). Esse alimento pode ser utilizado na dieta a partir de diversos níveis de processamento, os quais visam melhorar a digestibilidade do amido tanto no rúmen quanto no intestino (Owens et al., 1997). Entretanto, apesar de alguns níveis de processamento se mostrarem mais eficientes em potencializar a digestibilidade do amido, o milho moído ainda é a forma mais empregada nos confinamentos (Silvestre; Millen, 2021).

O amido é destacado por possuir elevada taxa de degradação ruminal quando comparado a outros carboidratos (Owens; Soderlund, 2006; Rooney; Pflugfelder, 1986). A maior taxa de degradação associada ao amido proporciona maior disponibilidade de energia no rúmen, refletindo em aumento no crescimento microbiano e proporcionando maior digestibilidade da matéria seca (MS) e da matéria orgânica (MO) (Cantalapiedra-Hijar et al., 2009). O aumento na digestibilidade da MS, devido ao aumento na degradação do amido, favorece o consumo de energia e reflete em redução no consumo de matéria seca (CMS; NRC, 2007). Além disso, a maior inclusão de amido na dieta influencia a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), com aumento expressivo na concentração de propionato e diminuição na relação acetato:propionato (Orskov; Ryle, 1990; Rodrigues, 2016).

O propionato está relacionado à maior retenção de energia digestível, pois durante sua síntese parte da energia perdida em rotas bioquímicas para produção de acetato e butirato é recuperada (Rodrigues, 2016). Para cada mol de glicose

fermentado, 109% de energia pode ser recuperada na produção de propionato, enquanto para o acetado e butirato a taxa de recuperação é de 62 e 78%, respectivamente (Orskov; Ryle, 1990). O aumento na síntese de propionato está intimamente associado à redução na produção de metano, o qual pode representar uma perda de energia digestível de até 12% (Van Soest, 1994). Por sua vez, a redução na produção de metano ocorre devido à utilização de H_2 no processo de síntese de propionato, que seriam utilizados para produção de metano. Vale destacar também, que além dos processos relacionados ao rúmen, o propionato, por meio da gliconeogênese no fígado, é utilizado como precursor para síntese de glicose em ruminantes (Leng et al., 1967; Loncke et al., 2020).

Apesar dos pontos positivos na utilização de dietas com elevada inclusão de concentrado, essas são desafiadoras à saúde e ao funcionamento adequado do rúmen, devido à capacidade de reduzir o pH ruminal (Nagaraja; Lechtenberg, 2007). O declínio do pH ruminal é decorrente do aumento na produção e concentração de ácidos orgânicos no rúmen, reflexo do aumento na digestibilidade da dieta e da taxa de absorção limitada de AGCC pelo epitélio ruminal (Aschenbach et al., 2011). O baixo pH ruminal por períodos prolongados pode afetar a ingestão de alimento, o metabolismo microbiano, a digestibilidade da dieta, como também está relacionado a processos inflamatórios e a diarreia (Dijkstra et al., 2012). A redução do pH ruminal resulta em quadros de acidose, distúrbio metabólico, classificado em duas classes: acidose subclínica e acidose clínica. A acidose subclínica é caracterizada quando o pH ruminal se encontra na faixa de 5,5 a 5,0. Esse tipo de acidose contribui para perdas econômicas acentuadas, pois reduz o desempenho devido ao menor CMS, reduz a digestibilidade e contribui para à incidência de abcesso hepático (Nagaraja; Lechtenberg, 2007). Por sua vez, a acidose clínica se dá pelo pH ruminal abaixo de 5,0, o que é resultado do aumento na concentração de ácido lático no rúmen. O D-lactato é o grande responsável por essa disfunção fisiológica. Quadros de acidose clínica são perceptíveis nos animais, pois os sintomas são evidentes.

Tendo em vista os prejuízos e desafios associados ao pH ruminal quando dietas de alto concentrado são praticadas, a adaptação dos animais é primordial para o sucesso desse manejo nutricional. Protocolos de adaptação em escada e de restrição são eficientes para a inclusão de dietas ricas em concentrado em confinamentos. Porém, o protocolo em escada é o mais utilizado entre os confinamentos brasileiros de bovinos de corte (Silvestre; Millen, 2021). No entanto,

além dos protocolos de adaptação, a utilização de aditivos alimentares também é destacada como uma ferramenta de manejo eficiente. A monensina sódica, principal aditivo ionóforo utilizado nos confinamentos (Silvestre; Millen, 2021), já é bem estabelecida em regular positivamente o pH ruminal em dietas ricas em concentrado para cordeiros (Gastaldello et al., 2013). Por outro lado, aditivos naturais como alguns óleos essenciais também são destacados por melhorias na estabilidade do pH ruminal. No entanto, esse efeito é dependente da composição do óleo essencial e da dose utilizada (Nehme et al., 2021).

2.2 Caracterização dos óleos essenciais

Óleos essenciais são substâncias lipofílicas, líquidas e voláteis obtidas das mais variadas partes das plantas (flores, cascas, colmos, sementes, frutos, folhas e raízes). Os óleos essenciais podem ser obtidos por prensagem, extração com solventes orgânicos, extração por CO_2 supercrítico, hidrodestilação e destilação a vapor (Nehme et al., 2021; Perricone et al., 2015). Uma característica marcante que difere os óleos essenciais das substâncias lipídicas é a volatilidade e a variação de sua composição entre as diferentes partes da planta, e entre as diferentes espécies de plantas (Dorman; Deans, 2000). A composição química dos óleos essenciais pode variar conforme o clima, estação do ano, condições geográficas, genética da planta, período de colheita e da técnica de extração (Nehme et al., 2021; Patra, 2011). Estima-se que mais de 3.000 tipos de óleos essenciais sejam conhecidos, desses cerca de 300 possuem importância comercial e são relevantes economicamente (Calsamiglia et al., 2007).

Os óleos essenciais possuem aparência oleosa e são compostos por moléculas formadas no metabolismo secundário das plantas pelas vias do ácido chiquímico e do ácido mevalônico (Loza-Tavera, 1999). Pela via do ácido chiquímico são formados aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano e tirosina) e compostos fenólicos (flavonoides e não flavonoides). Pela via do ácido mevalônico são formados os terpenos ou isoprenos (limoneno, β-cariofileno, cinamaldeído e capsaicina). Os terpenos podem ser classificados conforme o número de unidades de isopreno (molécula com 5 átomos de carbono), sendo: C5 = hemiterpeno; C10 = monoterpeno; C15 = sesquiterpeno; C20 = diterpeno; C30 = triterpeno; C40 = tetraterpeno e

unidades maiores são chamadas de politerpeno. Além disso, os terpenos podem ser sub-classificados conforme o grau de ciclização da molécula, ou seja, como acíclicos (moléculas abertas), monocíclicos, bicíclicos e aromáticos (Dewick, 1999).

As moléculas que compõem os óleos essenciais possuem papel ecológico fundamental, pois agem como mensageiros químicos entre as plantas e o ambiente. O termo “essencial” faz referência à “essência”, que está relacionado à capacidade dessa substância em fornecer sabores e odores característicos a muitas plantas (Calsamiglia et al., 2007). O fato dos óleos essenciais se destacarem no campo da medicina humana e dos cosméticos advém de suas propriedades anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antioxidante, antiparasitária, antiprotozoário e inseticida (Burt, 2004; Knobloch et al., 1989).

2.3 Utilização de óleos essenciais

A utilização e o conhecimento das propriedades curativas dos óleos essenciais remetem às antigas civilizações (Guenther; Althausen, 1948), sendo uma das formas mais antigas empregadas na medicina humana (Bauer et al., 2008).

Na alimentação de ruminantes, os primeiros relatos da utilização de óleos essenciais datam das décadas de 50 e 60. No trabalho de Crane et al. (1957) foi avaliado o potencial antibacteriano *in vitro* do limoneno e do pineno e observado que esses terpenos demostraram potencial na mitigação de metano. No estudo *in vitro* de Borchers (1965), a utilização de timol reduziu o processo de desaminação, o que resultou em diminuição na concentração de amônia no rúmen. Apesar dos resultados promissores dos óleos essenciais como moduladores da fermentação ruminal, esses ganharam mais atenção da comunidade cientifica a partir de 2006, quando a União Europeia proibiu a utilização de antibióticos na alimentação de ruminantes (diretiva 1831/2003/CEE, Comissão Europeia, 2003). A alegação para essa proibição é a presença de resíduos de antibióticos na carne ou no leite, os quais podem contribuir para o desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos utilizados na medicina humana (Benchaar et al., 2008; Calsamiglia et al., 2007; Rofiq, 2016). Associado a isso, é importante destacar também a mudança no comportamento dos consumidores, os quais nas últimas décadas passaram a buscar por alimentos mais seguros e que possibilitem melhor qualidade de vida (Nehme et al., 2021). Sendo assim, os óleos essenciais como outros aditivos alimentares naturais (taninos e

saponinas) têm ganhado maior visibilidade e espaço na alimentação de ruminantes como moduladores da fermentação ruminal e do desempenho animal.

Apesar do grande interesse pela utilização de produtos naturais como aditivos alimentares para ruminantes, a maioria das pesquisas realizadas destacam os efeitos de óleos essenciais em experimentos *in vitro*. No entanto, esse cenário tem mudado e o número de pesquisas *in vivo* tem aumentado nos últimos tempos (Nehme et al., 2021; Torres et al., 2021, 2020). O aumento nas pesquisas *in vivo* decorre da necessidade do conhecimento sobre as melhores doses, como também as interações dos óleos essenciais com a dieta e o ambiente ruminal, uma vez que as doses praticadas *in vitro* parecem não ser aplicáveis em estudos *in vivo*.

Nos últimos anos vários produtos comerciais surgiram propondo a utilização de óleos essenciais na forma de *blends*, formado por um mix de óleos essenciais ou compostos específicos (Newbold et al., 2004; Samii et al., 2016). A comunidade científica deu mais atenção para a avaliação desses produtos, como também tem investigado novas combinações entre óleos essenciais (Geraci et al., 2012; Spanghero et al., 2008). O interesse sobre as combinações de óleos essenciais ou compostos específicos se dá ao efeito sinérgico ou aditivo, como também o efeito deletério, o qual pode comprometer os efeitos esperados principalmente sobre a fermentação ruminal (Calsamiglia et al., 2007).

Outro ponto de destaque e atenção sobre a utilização de óleos essenciais na alimentação de ruminantes é a prática do encapsulamento, a qual visa aumentar a estabilidade e reduzir as perdas de compostos presentes nos óleos essenciais (Nehme et al., 2021). Além disso, o encapsulamento favorece a distribuição homogênea e propicia o controle da taxa e liberação no ambiente ruminal.

2.4 Modo de ação dos óleos essenciais no ambiente ruminal

As primeiras evidências científicas que descrevem as propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais surgiram após o início do século XX (Hoffmann; Evans, 1911). Desde então, muitos compostos foram descobertos e estudados. Os mecanismos de ação dos óleos essenciais são bem compreendidos. Entretanto, muito conhecimento ainda precisa ser elucidado, devido à infinidade de compostos existentes (Calsamiglia et al., 2007; Jafari et al., 2019; Lambert et al., 2001).

O mecanismo de ação destacado como responsável pela ação antibacteriana está relacionado a capacidade dos óleos essenciais em causar danos à parede celular bacteriana, desnaturando e coagulando proteínas ou alterando a permeabilidade da membrana (Benchaar et al., 2008). A alteração na permeabilidade da membrana acarreta a fuga de íons e outros compostos citoplasmáticos. Essas alterações reduzem o gradiente iônico transmembrana e conduz ao agravamento de processos essenciais para manutenção celular, como o transporte de elétrons, translocação de proteínas, fosforilação e reações dependentes de enzimas (Burt, 2004; Rofiq, 2016). Nesse processo, inicialmente as bactérias conseguem contrabalancear os efeitos do extravasamento de íons acionando suas bombas iônicas, um processo que requer energia e reflete em menor disponibilidade de energia para o crescimento bacteriano (Calsamiglia et al., 2007). É importante considerar também que o extravasamento exagerado de íons e moléculas vitais pode levar à morte celular.

O efeito antibacteriano dos óleos essenciais está associado à forma iônica dos compostos, uma vez que somente a forma não ionizada, devido à sua hidrofobicidade, conseguem interagir com a membrana celular. Por isso, ambientes ácidos tendem a manter os compostos na sua forma não ionizada, maximizando o efeito antimicrobiano. Essa informação no contexto prático seria viabilizada a partir da utilização de dietas com elevada inclusão de concentrado, as quais favorecem a queda do pH ruminal (Calsamiglia et al., 2007).

Os compostos presentes nos óleos essenciais podem variar quanto ao modo de ação e o potencial antibacteriano no rúmen. A partir da avaliação da produção de gases em um experimento *in vitro,* Dorman et al. (2000) observaram que monoterpenos oxigenados possuem maior taxa de inibição aos microrganismos do rúmen em relação aos monoterpenos hidrocarbonados. Ultee et al. (2002) descreveram que compostos oxigenados como carvacrol, eugenol e timol possuem elevado efeito antibacteriano. As substâncias bioativas presentes nos óleos essenciais podem atuar tanto em bactérias Gram-positivas como em Gram-negativas. Bactérias Gram-positivas são mais sensíveis ao efeito antibacteriano, devido à ausência da membrana externa rica em lipopolissacarídeos (Dorman; Deans, 2000), possibilitando efeitos semelhantes aos ionóforos sobre o ambiente ruminal. Por outro lado, bactérias Gram-negativas são menos sensíveis e o efeito antimicrobiano nesse caso é dependente da dose utilizada, como também dos compostos presentes no óleo

essencial, pois moléculas de baixo peso molecular podem ultrapassar a membrana via proteínas de transmembrana (Benchaar; Greathead, 2011).

2.5 Efeito dos óleos essenciais no rúmen

A investigação dos óleos essenciais em ruminantes refere-se, principalmente, à sua atuação no rúmen e tem demostrado resultados promissores como moduladores da fermentação ruminal (Calsamiglia et al., 2007; Jafari et al., 2019; Rofiq, 2016). Benefícios como melhoria na eficiência alimentar, decorrente da maior eficiência energética da dieta, aumento na proporção molar de propionato e diminuição da desaminação e da produção de metano, são resultados frequentemente obtidos com a utilização de óleos essenciais na nutrição de ruminantes (Benchaar; Greathead, 2011; Calsamiglia et al., 2007; Jahani-Azizabadi et al., 2019; Torres et al., 2021, 2020).

Óleos essenciais podem manipular a fermentação ruminal e geram alterações nas populações microbianas do rúmen, como confirmado em experimento de biologia molecular (Ferme et al., 2004). Assim, diversas pesquisas foram realizadas, principalmente *in vitro* e em menor quantidade *in vivo*, visando identificar agentes potenciais dos óleos essenciais com a finalidade de desenvolver aditivos alternativos que melhorem os processos biológicos no rúmen (Cobellis et al., 2016; Patra, 2011).

A concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen é geralmente pouco afetada (Chaves et al., 2008; Meschiatti et al., 2019; Parvar et al., 2018; Patra, 2011). Estudos *in vitro* demonstraram efeitos dose dependentes, onde a elevada inclusão de óleo essencial normalmente inibe o processo de fermentação, com queda notável na concentração total de AGCC e baixa degradação de substrato (Macheboeuf et al., 2008). Busquet et al., (2006) observaram que diferentes doses (0, 3, 30 e 300 mg/L) de uma ampla gama de óleos essenciais e compostos (anis, tea tree, carvacrol, anetol e eugenol) não afetaram a concentração total de AGCC. No mesmo estudo, a dose de 3000 mg/L (dose mais alta) foi responsável pela redução na concentração de AGCC. Em experimentos *in vivo* foi observado aumento na concentração total de AGCC no rúmen quando cordeiros foram suplementados com cinamaldeído na dose de 0,2 g/kg de MS (Chaves et al., 2008). Benchaar et al. (2008) destacaram que há um número limitado de trabalhos reportando aumento na concentração de AGCC e que a maioria dos trabalhos publicados não observam alterações sobre esse parâmetro.

As respostas do óleo essencial sobre a concentração total de AGCC está intimamente ligada ao tipo de dieta utilizada (Benchaar et al., 2008; Torres et al., 2021). Quando vacas em lactação foram alimentadas com silagem de alfafa ou silagem de milho, com a adição de 750 mg/dia de uma mistura de óleos essenciais, a concentração total de AGCC não foi alterada (Benchaar et al., 2007b). Entretanto, Benchaar et al. (2008) destacaram que dietas ricas em grãos associadas a suplementação com óleos essenciais favorecem o aumento na concentração total de AGCC. Por outro lado, esse efeito não foi observado em dietas com elevada inclusão de forragem. Os mesmos autores relataram que o efeito dos óleos essenciais sobre a concentração de AGCC é dose dependente, e que altas doses podem reduzir a concentração total de AGCC devido à diminuição na digestibilidade da dieta.

Quanto a proporção molar dos AGCC, alguns autores reportaram aumento de propionato (Benchaar et al., 2007a), como também há relatos de redução ou ausência de efeito sobre a proporção molar desse AGCC (Akram et al., 2021; Nehme et al., 2021). Em relação ao efeito da dose, Torres et al. (2021) relataram redução na concentração de propionato até a taxa de inclusão de 500 mg/kg de MS de óleo essencial na dieta para bovinos. Por sua vez, é destacado que a utilização de óleos essenciais na dieta é frequentemente relacionada ao aumento na proporção molar de butirato (Benchaar et al., 2008). É relatado que a variação na proporção molar dos AGCC se deve ao efeito associativo entre o óleo essencial, a dose e a dieta utilizada (Akram et al., 2021; Khiaosa-Ard; Zebeli, 2013; Torres et al., 2021, 2020). O tempo de suplementação também pode exercer efeito significativo sobre a proporção molar dos AGCC. Torres et al. (2020) destacaram em meta-análise que a suplementação com óleo essencial até 30 dias contribui para redução na proporção molar de acetato, e acima desse período há aumento na proporção de acetato. Soltan et al. (2018) observaram que a concentração de propionato aumentou até a segunda semana de suplementação com óleo essencial, e após a segunda semana, a concentração de propionato se manteve estável. Cobellis et al. (2016) destacaram que a resposta de ruminantes à suplementação com óleo essencial é afetada pela capacidade que os microrganismos possuem de degradar os compostos bioativos, como também a adaptação dos microrganismos do rúmen a esses compostos.

É destacado que os efeitos dos óleos essenciais são dependentes do pH ruminal. Cardozo et al. (2005) observaram que alguns óleos essenciais puros possuem impacto mais pronunciado sobre o perfil de AGCC em pH ruminal baixo. Os

mesmos autores propuseram que o *status* das moléculas de óleo essencial, isto é, se estão na forma ionizada ou não ionizada é altamente dependente do pH ruminal. Da mesma forma, Spanghero et al. (2008) observaram que uma mistura de óleos essenciais, modificou a proporção molar de AGCC, com redução na proporção de acetato e na relação acetato:propionato, mas apenas quando o pH do rúmen era baixo. Benchaar et al. (2008) reportaram que a utilização do cinamaldeido em pH= 7,0 favoreceu o aumento na relação acetato:propionato, enquanto em pH= 5,5 a presença desse mesmo composto favoreceu a redução dessa relação.

A utilização de óleo essencial também pode reduzir a produção de metano (Calsamiglia et al., 2007; Nehme et al., 2021). Torres et al. (2020) relacionaram a diminuição na produção de metano à redução na população de protozoários. Os autores observaram uma diminuição de 16% na população de protozoários quando ovinos foram suplementados com óleo essencial. Torres et al. (2021) destacaram o efeito inibitório dos óleos essenciais sobre bactérias Gram-positivas e aumento na proporção molar de propionato, eventos relacionados a redução na produção de metano. Do ponto de vista energético, é altamente vantajoso a diminuição na produção de metano, uma vez que esse é responsável por até 20% da energia perdida na forma de gases (Cottle et al., 2011; Jafari et al., 2019). Vale destacar também que a diminuição na produção de metano está relacionada a produção animal de forma sustentável, uma vez que o metano é considerado um dos gases responsáveis pelo efeito estufa (Cottle et al., 2011).

Quanto ao efeito dos óleos essenciais sobre o metabolismo proteico no rúmen, são frequentes os relatos de diminuição na produção de amônia (Akram et al., 2021; Calsamiglia et al., 2007; Nehme et al., 2021). Esse efeito é associado a redução na população de bactérias hiperprodutoras de amônia no rúmen (Benchaar et al., 2008; Wallace, 2004). Wallace et al. (2002) observaram que as bactérias hiperprodutoras de amônia, o *Clostridium sticklandii* e *Peptostreptococcus anaerobius* são sensíveis à presença de uma mistura de compostos (timol, eugenol, valina e limoneno) *in vitro*. Em relação ao tempo de suplementação, Torres et al. (2020) destacaram a partir de uma meta-análise que os efeitos *in vivo* dos óleos essenciais sobre a produção de amônia no rúmen ocorrem de forma mais pronunciada até 30 dias de suplementação, após esse período a concentração de amônia volta a aumentar, o que foi associado a adaptação ou modificação da comunidade microbiana presente no rúmen. Benchaar et al. (2008) enfatizaram que os efeitos dos óleos

essenciais sobre o metabolismo proteico no rúmen são dependentes da composição do óleo, como também da dose utilizada. Os mesmos autores destacam que os efeitos sobre a concentração de amônia estão intimamente associados a sensibilidade dos protozoários aos compostos bioativos nos óleos, uma vez que os protozoários possuem atividade proteolítica e de desaminação. De modo geral, os óleos essenciais parecem não alterar a atividade proteolítica no rúmen, mas há relatos de que esses atuam principalmente sobre a fase final do metabolismo proteico no rúmen, ou seja, sobre o processo de desaminação (Benchaar et al., 2008; Rofiq, 2016). É importante destacar que os efeitos dos óleos essenciais sobre o metabolismo proteico são dependentes da dieta (Patra, 2011). Benchaar et al. (2008) descreveram que o nível de inclusão de proteína bruta (PB) na dieta pode ser determinante sobre a influência dos óleos essenciais no metabolismo proteico, dietas com elevada inclusão de PB reduzem o efeito dos óleos essenciais quando comparado a dietas com baixa inclusão de PB.

Além dos benefícios apontados na utilização de óleos essenciais como modulares da fermentação ruminal, pesquisadores tem se interessado pelos efeitos dos compostos secundários de plantas sobre a população de microrganismos produtores de lactato, visando selecionar plantas que contenham substâncias capazes de auxiliar no combate à acidose ruminal (Hutton et al., 2009).

O efeito dos óleos essenciais sobre a manutenção do pH ruminal são divergentes. Nehme et al. (2021) apontaram que o uso de óleos essenciais refletiu em aumento do pH ruminal. No entanto, os mesmos autores destacaram que esse resultado é dependente da composição do óleo e da dose utilizada. Doses maiores tem maior potencial em aumentar o pH ruminal, porém esse benefício é relacionado concomitantemente a redução na concentração total de AGCC e na digestibilidade da dieta. Torres et al. (2020; 2021) não observaram efeito dos óleos essenciais sobre o pH ruminal de ovinos e bovinos. Mirzaei-Alamouti et al. (2016) também não observaram impacto dos óleos essenciais (2 g/dia) quando cordeiros receberam dieta contendo 80% de concentrado e 20% de forragem.

Sobre a digestibilidade, Torres et al. (2020) não observaram efeito da utilização de óleos essenciais para ovinos sobre a digestibilidade da MS e da MO, mas destacaram redução na digestibilidade da PB e aumento na digestibilidade da FDN. O aumento na digestibilidade da FDN foi devido ao aumento na população de *Fibrobacter succinogenes*, bactéria celulolítica com alta atividade na degradação de

fibra. No entanto, Cobellis et al. (2016) destacaram inconsistência nos resultados de digestibilidade da dieta quando óleos essenciais foram utilizados. Nehme et al. (2021) correlacionaram a divergência dos resultados associados a digestibilidade, a fonte e a composição do óleo essencial, como também a metodologia utilizada em cada estudo.

2.6 Efeito dos óleos essenciais sobre o desempenho

Informações sobre o desempenho de ruminantes recebendo óleos essenciais ainda são escassas na literatura, pois grande parte dos trabalhos publicados relataram resultados obtidos em experimentos *in vitro*. Os resultados negativos encontrados em trabalhos *in vivo* utilizando óleos essenciais podem ser atribuídos ao desconhecimento das melhores doses, como também as possíveis interações com a dieta e com o ambiente ruminal.

Já se constatou redução no CMS ao utilizar óleos essenciais visando manipular a fermentação ruminal. O fornecimento de 180 mg/dia de cinamaldeído associado a 90 mg/dia de eugenol reduziu em 16% o CMS e em 14% a ingestão de água por novilhas de corte (Cardozo et al., 2006). Outro trabalho com diferentes doses de óleo essencial de *Ferulago angulata* na alimentação de cordeiros verificou redução de 7% no CMS, sem influenciar o ganho de peso diário (Parvar et al., 2018). No entanto, não foi observado influência dos óleos essenciais sobre o CMS de ovinos em um estudo de meta-análise (Torres et al., 2020)

Óleos essenciais possuem, em sua grande maioria, cheiro e gosto bem acentuados, o que pode afetar negativamente a aceitabilidade dos alimentos, sendo a fonte do óleo e a quantidade fornecida fatores determinantes (Nehme et al., 2021). Os efeitos dose dependentes foram demonstrados ao fornecer 0, 400, 800 e 1600 mg/dia de cinamaldeído para novilhas, constatando-se efeito quadrático sobre o CMS (Yang et al., 2010). Logo, a definição da quantidade adequada a ser fornecida é fator importante para o sucesso do uso de óleos essenciais. Torres et al. (2021) reportaram a partir de uma meta-análise que as doses de óleo essencial utilizadas para bovinos variaram, como segue: 50 – 100 mg/kg de MS (30,76%), 100 – 200 mg/kg de MS (30,76%), 300 – 400 mg/kg de MS (11,54%) e 400 – 500 mg/kg de MS (26,92%). Para ovinos as doses podem variar de 10 até mais de 1000 mg/kg de MS (Akram et al., 2021; Torres et al., 2020). É importante destacar que a responsividade aos óleos

essenciais varia entre as espécies de ruminantes. Bovinos de corte são mais responsivos quando comparados a bovinos leiteiros e pequenos ruminantes (Khiaosa-Ard; Zebeli, 2013). A maior responsividade de bovinos de corte em relação aos pequenos ruminantes se deve a diferença no perfil da população microbiana do rúmen, onde os pequenos ruminantes em função do processo evolutivo são mais aptos a degradar os compostos bioativos presentes nos óleos essenciais (Khiaosa-Ard; Zebeli, 2013; Torres et al., 2020).

Quanto ao desempenho, é relatado que a utilização de óleos essenciais não prejudica o ganho de peso diário (Patra, 2011). No entanto, existem relatos de que a diminuição no CMS pode impactar negativamente o ganho de peso e consequentemente o peso final e a eficiência alimentar (Souza et al., 2019). Torres et al. (2020) descreveram em meta-análise que doses de óleo essencial para ovinos acima de 100 mg/kg de MS reduzem o ganho de peso diário (GMD), enquanto doses acima de 200 mg/kg de MS afetaram negativamente o peso de abate. Mirzaei-Alamouti et al. (2016) não observaram aumento no GMD quando cordeiros receberam óleo essencial (2 g/dia) associado a uma dieta com 80% de concentrado. Parvar et al. (2018) e Smeti et al. (2018) também não observaram diferença no GMD em cordeiros suplementados com óleo essencial. Meschiatti et al. (2019) observaram resultados promissores utilizando *blend* comercial de óleos essenciais (Crina Ruminants), verificando maior GMD e peso ao abate em novilhos, sem efeito sobre a eficiência alimentar, devido ao maior CMS em relação à dieta controle. Em outro trabalho, novilhos receberam mistura de óleos essenciais (Vertan), apresentaram eficiência alimentar de 0,145, 0,158, 0,154 e 0,130 para o controle, monensina e 2 ou 4 g/dia da mistura, respectivamente (Benchaar et al., 2006). Foi verificado efeito quadrático da mistura de óleos sobre a eficiência alimentar, sendo a dose de 2 g/dia a melhor.

A utilização de óleos essenciais também tem sido frequentemente relacionada a redução de abcesso hepático em ruminantes (Samii et al., 2016; Torres et al., 2021). Esse efeito deve-se a ação dos óleos essenciais sobre a comunidade de bactérias *Fusobacterium necrophorum* (Samii et al., 2016). Vale destacar também, que para pequenos ruminantes a utilização de óleos essenciais pode favorecer o controle de parasitoses como hemoncose e eimeriose (Aouadi et al., 2021; Pessoa et al., 2002; Silva et al., 2021).

2.7 Efeito dos óleos essenciais sobre o metabolismo lipídico e o perfil de ácidos graxos da carne

São poucos os relatos sobre os efeitos dos óleos essenciais no metabolismo lipídico e no perfil de ácidos graxos da carne. A maioria dos trabalhos está voltada para estudos sobre os parâmetros de fermentação e o desempenho animal. Apesar disso, os trabalhos publicados demonstraram que os óleos essenciais podem modular positivamente o metabolismo de lipídeos no rúmen e alterar perfil de ácidos graxos na carne (Lourenço et al., 2010; Parvar et al., 2018; Smeti et al., 2018).

Devido ao efeito antimicrobiano, os óleos essenciais, podem agir sobre microrganismos responsáveis pelo processo de biohidrogenação (Lourenço et al., 2010). Vasta et al. (2012) destacaram que os óleos essenciais parecem exercer pouco efeito sobre bactérias responsáveis pela lipólise no rúmen. Por sua vez, Durmic et al. (2008) relataram que alguns extratos vegetais e óleos essenciais podem inibir o crescimento e/ou atividade das bactérias *Butyribrio fibrisolvens* e *Butyribrio proteoclasticus*, as quais estão envolvidas no processo de biohidrogenação ruminal. McIntosh et al. (2003) destacaram que as bactérias *Butyribrio fibrisolvens* em comparação a 21 cepas estudadas foram mais sensíveis à presença de uma mistura de óleos essenciais (timol, eugenol, valina e limoneno). É destacado que nem todos os óleos essenciais possuem potencial para modular comunidades de microrganismos envolvidos na biohidrogenação (Lourenço et al., 2010). Entretanto, Vasta et al. (2012) destacam que mais trabalhos são necessários para entender realmente qual o efeito dos óleos essenciais ou seus compostos específicos sobre as comunidades de microrganismos relacionados com a biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos.

Lourenço et al. (2009) observaram em experimento *in vitro* que a utilização de óleos essenciais ricos em limoneno e carvona resultou em acúmulo de C18:2 *cis*-9, *trans*-11 no rúmen, o que foi descrito como um indicativo do comprometimento da extensão total do processo de biohidrogenação. Lourenço et al. (2008) verificaram em experimento *in vitro* redução de 58% na biohidrogenação quando o cinamaldeído foi suplementado na dose de 500 mg/L, observou-se também maior acúmulo de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) e dos intermediários da biohidrogenação, C18:2 *trans*-11, *cis*-15, C18:2 *trans*-10, *cis*-12 e C18:1 *trans*-10. Os autores descaram no mesmo estudo a inibição de 6% da biohidrogenação quando o eugenol (250 mg/L) foi utilizado.

Apesar dos resultados promissores sobre a biohidrogenação, a literatura destaca que mais pesquisas são necessárias, pois os efeitos dos óleos essenciais ainda não são totalmente compreendidos quando se visa modular a biohidrogenação ruminal. Além disso, os resultados observados em experimentos *in vitro* e *in vivo* são contraditórios, o que pode ser associado a adaptação dos microrganismos ruminais ao óleo essencial e/ou seus compostos. De acordo com Busquet et al. (2005), os microrganismos são capazes de se adaptar a presença de óleos essenciais. Isso implica que os resultados obtidos *in vitro* devido a curta duração podem ser apenas uma visão parcial do real impacto dos óleos essenciais nos microrganismos ruminais envolvidos na biohidrogenação. Vasta et al. (2012) destacaram que a ausência dos efeitos observados *in vitro* e nos experimentos *in vivo* é o grande fator de desencorajamento de muitos pesquisadores em estudar os efeitos dos óleos essenciais sobre a biohidrogenação.

A utilização de óleos essenciais também pode melhorar a qualidade do perfil de ácidos graxos da carne. Estudos demonstraram que a utilização de óleos essenciais pode reduzir a proporção de ácidos graxos saturados e aumentar os poli-insaturados, conferindo maior relação entre os ácidos graxos poli-insaturados e saturados, associado a maior proporção de ácidos graxos ômega-6 (n-6) e ômega-3 (n-3) e consequentemente redução na relação n-6/n-3 (Parvar et al., 2018; Smeti et al., 2018). Smeti et al. (2018) ainda destacaram que os resultados obtidos em seu trabalho contribuíram para redução no índice de trombogenicidade, o que está correlacionado a menor incidência de doenças coronárias em humanos, refletindo em melhor qualidade nutricional da gordura presente na carne de cordeiro. Vasta et al. (2013) observaram que a utilização de óleo essencial de Artemísia (400 mg/kg de MS) aumentou a concentração dos ácidos graxos C18:1 *trans*-11, C18:2 *cis*-9, *trans*-11, C18:3 *cis*-9,12,15 e o total de ácidos graxos PUFA na carne de cordeiros. Também são encontrados trabalhos que não observaram efeito positivo dos óleos essenciais sobre o perfil de ácidos graxos na carne de cordeiros e bovinos (Rivaroli et al., 2016; Wang et al., 2020).

A utilização de óleos essenciais também pode influenciar de forma benéfica à qualidade nutricional da carne, devido sua propriedade antioxidante. Cordeiros recebendo diferentes teores (0, 250, 500 e 750 mg/kg de MS) de *Ferulago angulata*, produziram carnes com menor índice de oxidação lipídica pelo método do ácido tiobarbitúrico (TBARS; Parvar et al., 2018). Do ponto de vista de qualidade da carne,

a redução da oxidação lipídica está diretamente associada a melhor preservação das características nutricionais, organolépticas e visuais da carne quando exposta no varejo.

2.8 Óleo essencial de *Arnica montana*

A *Arnica montana* pertence à família Asteraceae é uma planta perene e nativa de regiões de alta altitude (Figura 1). A *Arnica montana* teve origem na Europa Central, mas se disseminou pelo norte da Ásia, Sibéria e América do Norte (Kriplani et al., 2017). É conhecida popularmente como arnica, arnica verdadeira, arnica das montanhas, panaceia das quedas, tabaco-das-montanhas, quina dos pobres, etc. Na medicina humana é utilizada para o tratamento de contusões, inflamações, dores musculares e reumáticas (Obón et al., 2012). Os extratos vegetais dessa planta possuem atividade antibacteriana, antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória, antifúngica e imunomoduladora (Kriplani et al., 2017).

Figura 1. *Arnica montana* (Fonte: Maftei, 2019)

O óleo essencial de *Arnica montana* é destacado com excelente efeito antimicrobiano sobre bactérias Gram-positivas (Koo et al., 2000). A composição do óleo essencial pode variar quanto a parte da planta utilizada, o tipo de extração, como também a região e o clima onde a planta se desenvolveu (Kriplani et al., 2017). De modo geral, o óleo essencial proveniente das flores é rico em sesquiterpenos, destacando predominantemente o β-cariofileno (Judžentiene e Budiene, 2009). O óleo essencial obtido da planta inteira apresenta maior concentração de monoterpenos

(Kriplani et al., 2017), e o óleo essencial obtido de rizomas e raízes possui maior concentração de monoterpenos, com destaque para os compostos canfeno, felandreno e limoneno (Kriplani et al., 2017; Sugier et al., 2020).

Atualmente o óleo essencial de *Arnica montana* é estudado com foco principalmente na saúde humana. É relatado que o óleo essencial de *Arnica montana* possui efeitos positivos sobre a atividade antitumoral (Sugier et al., 2020), antibacteriana (Iauk et al., 2003; Kryvtsova et al., 2019), anti-inflamatória (Silva Prade et al., 2020) e antioxidante (Kryvtsova et al., 2019). O óleo essencial de *Arnica montana* também tem sido utilizado em tratamentos homeopáticos (Erkan et al., 2018; Raza et al., 2021). Entretanto, na alimentação animal não há relato da utilização de óleo essencial de *Arnica montana* como aditivo alimentar.

2.9 Óleo essencial de laranja

O óleo essencial de laranja é composto majoritariamente por D-limoneno (> 90%). O D-limoneno é um composto incolor pouco solúvel em água, com cheiro característico de limão, é destacado como componente majoritário dos óleos essenciais da casca de frutas cítricas, como laranja, limão, tangerina, toranja e lima (Khan et al., 2019). A concentração de D-limoneno pode variar conforme o material de origem, é relatado uma concentração média de D-limoneno de 94% para tangerina, 91% para laranja, 72% para toranja e 65% para o limão (González-Mas et al., 2019).

A biossíntese do limoneno ocorre nas glândulas secretoras das plantas pela via do mevalonato a partir da condensação de isopentenil-pirofosfato e dimetilalil-pirofosfato, que resulta na formação de geranil-pirofosfato, um composto de 10 carbonos (Wang et al., 2016). A última reação na via biossintética do D-limoneno envolve a ciclização do geranil-pirofosfato em D-limoneno pela enzima limoneno sintase (Ferreira, 2020). O D-limoneno produzido atua como substrato para síntese de muitos outros monoterpenos monocíclicos (carvona, carveol e álcool perílico) (González-Mas et al., 2019).

A destilação a vapor, separação mecânica e extração com solventes são as principais técnicas empregadas na indústria para obtenção do óleo essencial de laranja. Porém, a extração mecânica é a mais utilizada a nível industrial, e se baseia na prensagem das cascas para a extração do óleo, sendo frequentemente combinado com a produção de sumo (Pires et al., 2018). Mundialmente, estima-se que a produção

média de sucos cítricos seja de 94,8 milhões de toneladas por ano, sendo o Brasil o líder mundial (Pires et al., 2018). Globalmente, cerca de 15,6 milhões de toneladas são resíduos industriais, sendo os principais componentes dos resíduos úmidos da casca, os açúcares, a celulose e hemicelulose, a pectina e o óleo essencial (Lin et al., 2013). Sendo assim, pode-se considerar o óleo essencial como um coproduto da indústria citrícola, o que vai de encontro com o assunto em pauta e de grande relevância quanto a sustentabilidade (Freitas et al., 2021).

Atualmente, o óleo essencial de laranja como fonte de D-limoneno tem ganhado grande atenção, pois se trata de um produto químico renovável, que possui inúmeras e crescentes aplicações. Seus usos tradicionais, como aroma, fragrância e solvente verde, estão se expandindo rapidamente, o que incluiu o D-limoneno como um produto químico de plataforma, termo utilizado para produtos renováveis com potencial de serem utilizados para diferentes fins (Ciriminna et al., 2014). O D-limoneno já é destacado por seus efeitos antioxidante, anti-inflamatório, anticancerígeno, antibacteriano, imunomodulador e antiestresse em humanos (Anandakumar et al., 2021; González-Mas et al., 2019).

O D-limoneno é reconhecido como uma substância segura (detendo o *status* GRAS da Food and Drug Administration dos EUA) e incluído na Farmacopeia Europeia. Por possuir baixa toxicidade, é seguro para o consumo humano. No entanto, Silva et al. (2021) avaliando diferentes doses (200, 300 e 600 mg/kg de peso vivo) de óleo essencial de laranja para cordeiros com objetivo de investigar seus efeitos sobre os parasitas gastrointestinais reportaram que as doses tiveram efeitos adversos quanto a toxicidade, mas que a dose de 600 mg/kg refletiu em sinais clínicos mais graves e com maior duração dos sintomas.

Na alimentação de ruminantes a avaliação *in vitro* do óleo essencial de laranja como fonte de D-limoneno demonstrou claro efeito antimicrobiano, quando associado a dietas com elevada inclusão de concentrado. Dentre os efeitos observados, vale destacar o aumento na concentração de propionato e consequente diminuição na produção de metano (Crane et al., 1957). Estudos *in vivo* são escassos quanto a utilização do D-limoneno como aditivo na alimentação. No entanto, Samii et al. (2016) avaliou as doses 0, 10, 20, 40 e 80 mg de D-limoneno/kg de MS em associação com dietas de alto concentrado para bovinos, e observaram efeito positivo da molécula sobre a manutenção do pH ruminal e da população de *Fusobacterium necrophorum*, a qual é responsável pela incidência de abcesso hepático. Em outro trabalho,

Kotsampasi et al. (2018) utilizaram as doses de 133, 265 e 399 mg de óleo essencial de laranja/kg de MS de concentrado na alimentação de ovelhas leiteiras. Os autores descreveram que o nível de inclusão de 300 mg aumentou a produção média diária de leite, enquanto a dose de 450 mg melhorou a eficiência alimentar. Nesse mesmo trabalho foi destacado que a dose de 300 mg repercutiu em aumento dos ácidos graxos saturados da gordura do leite e redução na concentração de ácidos graxos insaturados. Além disso, houve efeito linear à medida que as doses foram aumentadas para a melhoria do *status* antioxidante tanto do plasma sanguíneo quanto do leite, o que é um indicativo de melhoria na saúde do animal, repercutindo em melhor qualidade do leite produzido. Além desses trabalhos, o D-limoneno também é utilizado na composição de *blends*, os quais são compostos por um mix de vários óleos essenciais (Benchaar et al., 2006; Meschiatti et al., 2019; Rofiq, 2016).

Os resultados *in vivo* apresentados na literatura para a utilização do óleo essencial de laranja como fonte de D-limoneno são positivos sobre a modulação da fermentação ruminal e o desempenho animal. No entanto, ainda existem diversos fatores que precisam ser investigados e elucidados para que o óleo essencial de laranja seja recomendado e utilizado em larga escala como uma ferramenta nutricional nos sistemas de produção de ruminantes (Kotsampasi et al., 2018; Samii et al., 2016).

2.10 Monensina

A monensina é um poliéster carboxílico produzido pela cepa da bactéria *Streptomyces cinnamonensis*. Surgiu nos Estados Unidos em 1971 para o controle de coccidiose em aves (Chapman et al., 2010), mas com o tempo foi utilizada em diversas áreas da produção de ruminantes. A utilização de monensina em dietas de crescimento e terminação tornou-se uma prática alimentar convencional em vários países, pois pode aumentar a eficiência alimentar em torno de 8 a 12%. A melhoria na eficiência energética tem sido atribuída a mudanças nas razões molares de AGCC, diminuição na produção de metano e diminuição na degradação ruminal da proteína dietética (Fonseca et al., 2019; Goodrich et al., 1984; Tedeschi; Gorocica-Buenfil, 2018). Além disso, a utilização de monensina em dietas contendo elevada proporção de concentrado é associada a redução na incidência de distúrbios metabólicos (Russell; Strobel, 1988; Tedeschi et al., 2003).

A monensina de fórmula molecular $C_{36}H_{62}O_{11}$ é considerada um antibiótico poliéster, o qual refere-se a moléculas complexas com atividade antimicrobiana contendo vários grupos éter cíclicos, sendo a monensina uma molécula penta cíclica (Figura 2A). A monensina pode assumir conformação cíclica onde os átomos de oxigênio presentes no centro da estrutura podem se complexar com cátions específicos (Figura 2B). A monensina possui maior afinidade por íons Na^+ seguido de K^+, Rb^+ e Li^+. Os grupos alquil (CH_3) espalhados pela superfície externa da molécula conferem efeito lipofílico, atribuindo motilidade a esse composto na membrana celular. Dessa forma, a monensina atua como um transportador de íons, onde os íons Na^+ são transportados para fora da célula e os íons H^+ são simultaneamente transportados para dentro da célula por difusão passiva. Sendo assim, o efeito antimicrobiano da monensina como de tantos outros aditivos ionóforos se baseia na perturbação do gradiente intracelular, o que faz com que o microrganismo lance mão de processos homeostáticos, como a ativação da ATPase. A ativação da ATPase visa exportar o excesso de íons H^+ do meio intracelular, porém esse processo exige gasto de energia, o que implica na insuficiência de energia disponível para o crescimento microbiano (Schelling, 1984) (Figura 2C).

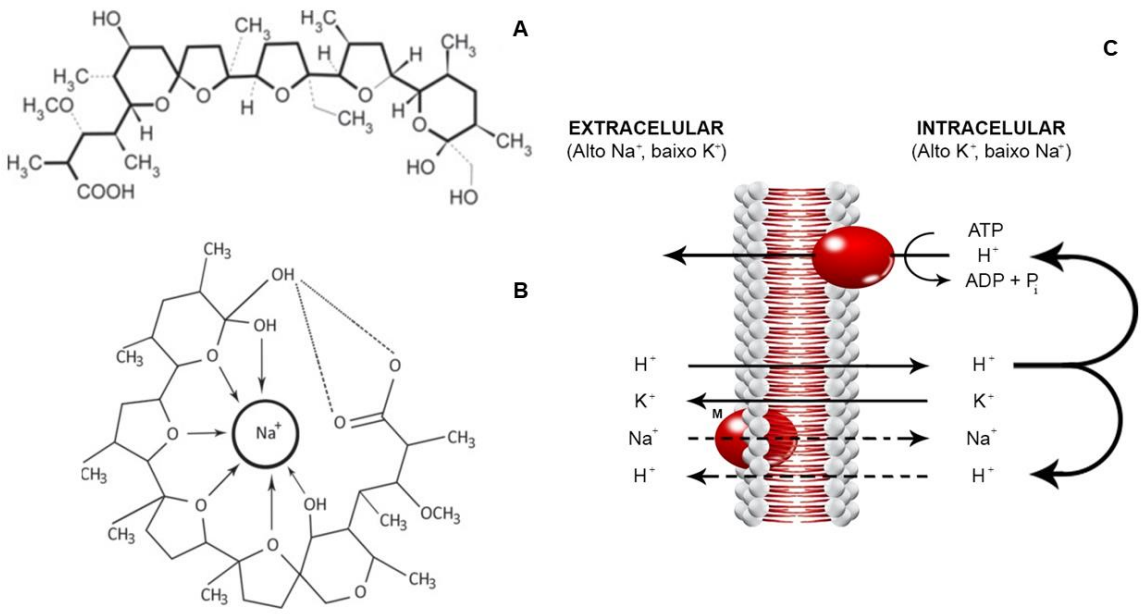

Figura 2. A) Estrutura da monensina (Chapman et al., 2010). B) Conformação da monensina quando ligada a um cátion (Chapman et al., 2010). C) Diagrama esquemático mostrando os efeitos hipotéticos da monensina (M) no fluxo iônico em Streptococcus bovis, adaptado de Russell e Strobel (1988).

A suscetibilidade de ação da monensina decorre da estrutura celular do microrganismo. Bactérias Gram-negativas possuem parede celular contendo três camadas (membrana citoplasmática, membrana de peptidoglicano e membrana externa), enquanto bactérias Gram-positivas possuem apenas duas camadas (membrana citoplasmática e membrana de peptidoglicano) (Nagaraja, 1995). Dessa forma, bactérias Gram-positivas são mais suscetíveis aos efeitos da monensina, pois não possuem uma membrana externa, que serve como barreira protetora.

A monensina é utilizada na alimentação de ruminantes com objetivo de modular o processo de fermentação. No metabolismo ruminal a monensina é destacada principalmente por aumentar a produção de propionato, reduzir a produção de acetato, a relação acetato:propionato e a produção de metano (Goodrich et al., 1984; Ogunade et al., 2018; Tedeschi et al., 2003). A monensina também é associada em melhorar o metabolismo proteico, pois sua utilização está relacionada a redução na concentração de amônia no rúmen, reflexo da redução no processo de desaminação (Russell et al., 1988). Também é destacado que a utilização de monensina na dieta pode reduzir a degradação proteica no rúmen (McGuffey et al., 2001), o que consequentemente contribui para maior passagem de proteína dietética para o intestino.

A monensina é bem estabelecida na literatura como um aditivo capaz de melhorar a estabilidade do pH ruminal quando dietas ricas em grãos são utilizadas. A monensina tem efeito comprovado sobre bactérias *Streptococus bovis*, as quais são destacadas como as principais produtoras de ácido lático no rúmen, o principal responsável pela redução do pH ruminal (Nagaraja et al., 1982). Além disso, a adição de monensina na dieta pode levar a redução no CMS e no tamanho das refeições, além de aumentar o número de refeições (Goodrich et al., 1984), essa mudança no padrão de consumo reflete em menor quantidade de substrato disponível para fermentação, possibilitando a melhor estabilidade do pH ruminal. Foi relatado também que a monensina pode aumentar a expressão dos genes transportadores de monocarboxilato 1 (MCT1) e transportadores de monocarboxilato 2 (MCT2), os quais estão associados ao transporte de AGCC no epitélio ruminal, a maior expressão desses genes foi relacionada a melhor estabilidade do pH ruminal quando cordeiros confinados receberam dieta contendo 90% concentrado e 10% de forragem (Mirzaei-Alamouti et al., 2016).

Com relação ao desempenho, a monensina é relacionada a redução no CMS, aumento no GMD e na eficiência alimentar (Duffield et al., 2012; Goodrich et al., 1984; Torres et al., 2021). A utilização de monensina em dietas contendo majoritariamente forragem parece ter efeito mais pronunciado em melhorar a eficiência alimentar quando comparado a dietas contendo elevada inclusão de concentrado (Duffield et al., 2012). É destacado que as respostas da monensina sobre o desempenho animal são dependentes da dose, tipo de animal, localização geográfica, sistema de manejo, duração da alimentação e condições experimentais (Duffield et al., 2012; Goodrich et al., 1984).

Para ovinos, as doses de monensina são estudadas desde a década de 70. Nockels et al. (1978) estudaram diferentes teores (0, 5,5, 11, 22 e 33 ppm) de monensina para cordeiros em confinamento. Os autores destacaram que as doses de 5,5 e 11 ppm proporcionaram maior GMD aos cordeiros quando comparadas as demais doses. Nesse mesmo trabalho, a eficiência alimentar de modo geral foi aumentada em 9% em relação ao tratamento controle, já as características de carcaça não foram alteradas pela inclusão de monensina na dieta. Joyner et al. (1979) avaliaram as doses de 0, 5, 10, 20 e 30 ppm de monensina para cordeiros sobre o crescimento e a eficiência alimentar. Os autores não observaram diferença para o GMD, mas relataram uma redução no CMS de 2 a 18% e melhora na eficiência alimentar na ordem de 7 a 11% quando comparado ao controle. Nesse mesmo trabalho, as doses de 10 e 20 ppm de monensina favoreceram a redução na perda de energia nas fezes, urina e metano em relação ao controle. Além disso, a monensina favoreceu a retenção de energia e nitrogênio dietético. Polizel et al. (2021) associaram diferentes doses de monensina (0, 8, 16 e 24 mg/kg de MS) a uma dieta contendo 90% de concentrado e 10% de forragem para cordeiros em confinamento, foi observado redução no CMS e efeito quadrático no GMD e na eficiência alimentar, com maiores valores para a dose de 8 mg de monensina/kg de MS. No mesmo trabalho, os autores avaliaram o metabolismo ruminal e destacaram que as doses de monensina não influenciaram o consumo e a digestibilidade dos nutrientes. Porém, foi observado efeito quadrático para proporção de acetato, a relação acetato:propionato e o pH ruminal, sendo a dose de 16 mg/kg de MS responsável por reduzir a proporção de acetato e a relação acetato/propionato, essa mesma dose também proporcionou maior estabilidade ao pH ruminal. Apesar dos resultados observados na literatura, ainda não existe uma recomendação definitiva para inclusão de monensina em dietas

para cordeiros (Polizel et al., 2021). No entanto, a dose de 25 mg/kg de MS parece ser a mais utilizada em estudos que utilizaram ou compararam a monensina a outro tipo de aditivo (Lodi et al., 2019; Moura et al., 2017).

Além dos efeitos sobre o metabolismo ruminal e o desempenho animal, a inclusão de monensina na dieta também pode modular o perfil de ácidos graxos dos produtos oriundos de ruminantes. Estudos sugerem que as alterações no perfil de ácidos graxos estão associadas ao efeito antimicrobiano da monensina, o qual pode inibir o último passo da biohidrogenação ruminal (Fellner et al., 1997; Jenkins et al., 2003). Em bovinos leiteiros a utilização de monensina é destacada por aumentar as concentrações de C18:1 *trans*-11 e C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (Silva-Kazama et al., 2010). Para cordeiros em confinamento, observou-se que a utilização de monensina favoreceu o aumento dos ácidos graxos intermediários da biohidrogenação na carne, como também observou aumento expressivo na proporção de C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (França, 2011). Por outro lado, Ladeira et al. (2014) e Xu et al. (2014) não observaram alteração no perfil de ácidos graxos da carne de novilhos recebendo monensina. Já Kuss et al. (2006) reportaram que a utilização de monensina prejudicou o perfil de ácidos graxos da carne de bovinos.

REFERÊNCIAS

Akram, M.Z., Asghar, M.U., Jalal, H., 2021. Essential oils as alternatives to chemical feed additives for maximizing livestock production. J. Hell. Vet. Med. Soc. 72, 2595–2610. https://doi.org/10.12681/jhvms.26741

Anandakumar, P., Kamaraj, S., Vanitha, M.K., 2021. D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. J. Food Biochem. 45, 1–10. https://doi.org/10.1111/jfbc.13566

Aouadi, M., Sebai, E., Saratsis, A., Kantzoura, V., Saratsi, K., Msaada, K., Sotiraki, S., Akkari, H., 2021. Essential oil of Rosmarinus officinalis induces in vitro anthelmintic and anticoccidial effects against Haemonchus contortus and Eimeria spp. In small ruminants. Vet. Med. (Praha). 66, 146–155. https://doi.org/10.17221/139/2020-VETMED

Aschenbach, J.R., Penner, G.B., Stumpff, F., Gäbel, G., 2011. Ruminant nutrition symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. J. Anim. Sci. 89, 1092–1107. https://doi.org/10.2527/jas.2010-3301

Bauer, K., Garbe, D., Surburg, H., 2008. Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses. John Wiley & Sons.

Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 209–228. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014

Benchaar, C., Chaves, A. V., Fraser, G.R., Beauchemin, K.A., McAllister, T.A., 2007a. Effects of essential oils and their components on in vitro rumen microbial fermentation. Can. J. Anim. Sci. 87, 413–419. https://doi.org/10.4141/cjas07012

Benchaar, C., Duynisveld, J.L., Charmley, E., 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. Can. J. Anim. Sci. 96, 86–91.

Benchaar, C., Greathead, H., 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. Anim. Feed Sci. Technol. 166–167, 338–355. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.024

Benchaar, C., Petit, H.V., Berthiaume, R., Ouellet, D.R., Chiquette, J., Chouinard, P.Y., 2007b. 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. J. Dairy Sci. 90, 886–897. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(07)71572-2

Borchers, R., 1965. Proteolytic Activity of Rumen Fluid In Vitro. J. Anim. Sci. 24, 1033–1038.

Brito, G.F., Ponnampalam, E.N., Hopkins, D.L., 2017. The Effect of Extensive Feeding Systems on Growth Rate, Carcass Traits, and Meat Quality of Finishing Lambs. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 16, 23–38. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12230

Burt, S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. Int. J. Food Microbiol. 94, 223–253. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022

Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2006. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. J. Dairy Sci. 89, 761–771. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72137-3

Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2005. Screening for effects of plant extracts and active compounds of plants on dairy cattle rumen microbial fermentation in a continuous culture system. Anim. Feed Sci. Technol. 123-124 PA, 597–613. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.03.008

Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A., 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. J. Dairy Sci. 90, 2580–2595. https://doi.org/10.3168/jds.2006-644

Cantalapiedra-Hijar, G., Yáñez-Ruiz, D.R., Martín-García, A.I., Molina-Alcaide, E., 2009. Effects of forage:concentrate ratio and forage type on apparent digestibility, ruminal fermentation, and microbial growth in goats. J. Anim. Sci. 87, 622–631.

Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., Cardozo, P.. W., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2005. 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. J. Anim. Sci. 83, 2572–2579.

Carlis, M.S.P., 2021. Exigência de FDN fisicamente efetiva de forragem (FDN fef) em dieta à base de grão de milho inteiro na terminação de cordeiros. Dissertação (Mestre em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura " Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Chapman, H.D., Jeffers, T.K., Williams, R.B., 2010. Forty years of monensin for the control of coccidiosis in poultry. Poult. Sci. 89, 1788–1801. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00931

Chaves, A. V., Stanford, K., Gibson, L.L., McAllister, T.A., Benchaar, C., 2008. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 396–408. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.016

Ciriminna, R., Lomeli Rodriguez, M., Demma Carà, P., Lopez Sanchez, J.A., Pagliaro, M., 2014. Limonene: A versatile chemical of the bioeconomy. Chem. Commun. 50, 15288–15296. https://doi.org/10.1039/c4cc06147k

Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., Yu, Z., 2016. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. Sci. Total Environ. 545–546, 556–568. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.103

Cottle, D.J., Nolan, J. V., Wiedemann, S.G., 2011. Ruminant enteric methane mitigation: a review. Anim. Prod. Sci. 51, 491. https://doi.org/10.1071/an10163

Crane, A., Nelson, W.O., Brown, R.E., 1957. Effects of D-Limonene and α-D-Pinene on in Vitro Carbohydrate Dissimilation and Methane Formation by Rumen Bacteria. J. Dairy Sci. 40, 1317–1323.

Deng, K.D., Diao, Q.Y., Jiang, C.G., Tu, Y., Zhang, N.F., Liu, J., Ma, T., Zhao, Y.G., Xu, G.S., 2012. Energy requirements for maintenance and growth of Dorper crossbred ram lambs. Livest. Sci. 150, 102–110. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.08.006

Dewick, P.M., 1999. The biosynthesis of C5-C25 terpenoid compounds. Nat. Prod. Rep. 16, 97–130. https://doi.org/10.1039/a708935j

Dijkstra, J., Ellis, J.L., Kebreab, E., Strathe, A.B., López, S., France, J., Bannink, A., 2012. Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. Anim. Feed Sci. Technol. 172, 22–33. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.005

Dorman, H.J., Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88, 308–316.

Duffield, T.F., Merrill, J.K., Bagg, R.N., 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. J. Anim. Sci. 90, 4583–4592. https://doi.org/10.2527/jas.2011-5018

Durmic, Z., McSweeney, C.S., Kemp, G.W., Hutton, P., Wallace, R.J., Vercoe, P.E., 2008. Australian plants with potential to inhibit bacteria and processes involved in ruminal biohydrogenation of fatty acids. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 271–284. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.052

Eckermann, N.R., 2021. Exigência de FDN fisicamente efetiva de forragem (FDNfef) para cordeiros em terminação. Dissertação (Mestre em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura " Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Erkan, E., Parpar, K., Develi, T., Gündoğar, M., Gürler, G., 2018. The efficacy of homeopathic Arnica montana 200 CH on dental surgical treatments: a double-blind, placebo-controlled study. Eur. Res. J. 5, 793–799. https://doi.org/10.18621/eurj.417262

Fellner, V., Sauer, F.D., Kramer, J.K.G., 1997. Effect of Nigericin, Monensin, and Tetronasin on Biohydrogenation in Continuous Flow-Through Ruminal Fermenters. J. Dairy Sci. 80, 921–928. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76015-6

Ferme, D., Banjac, M., Calsamiglia, S., Busquet, M., Kamel, C., Avguštin, G., 2004. The effects of plant extracts on microbial community structure in a rumen-simulating continuous-culture system as revealed by molecular profiling. Folia Microbiol. (Praha). 49, 151–155. https://doi.org/10.1007/BF02931391

Ferreira, F.I.P., 2020. Análise de sequências de genes de limoneno sintases em genoma de citros. Dissertação (Mestre em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) - Universidade Federal de São Carlos, Araras.

Fonseca, M.P., Costa Cruz Borges, A.L.C.C., Carvalho, P.H.A., Silva, R.R., Gonçãlves, L.C., Borges, I., Lage, H.F., Ferreira, A.L., Saliba, E.O.S., Jayme, D.G., Glória, J.R., Graça, D.S., Meneses, R.M., De Carvalho, A.Ú., Filho, E.J.. F., Silva, A.A., 2019. Energy partitioning in cattle fed diets based on tropical forage with the inclusion of antibiotic additives. PLoS One 14, 1–11. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211565

França, P.M., 2011. Uso de ionóforos na alimentação de cordeiros Santa Inês para produção de carne. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Freitas, L.C., Barbosa, J.R., da Costa, A.L.C., Bezerra, F.W.F., Pinto, R.H.H., Carvalho Junior, R.N., 2021. From waste to sustainable industry: How can agro-industrial wastes help in the development of new products? Resour. Conserv. Recycl. 169. https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105466

Gallo, S.B., de Almeida Merlin, F., de Macedo, C.M., de Oliveira Silveira, R.D., 2014. Whole grain diet for Feedlot Lambs. Small Rumin. Res. 120, 185–188. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.05.014

Gastaldello, A.L., Pires, A. V., Susin, I., Mendes, C.Q., Queiroz, M.A.A., Amaral, R.C., Gentil, R.S., Ferreira, E.M., Mourão, G.B., Eastridge, M.L., 2013. Limestone with different particle size and sodium bicarbonate to feedlot lambs fed high grain diets

with or without monensin. Small Rumin. Res. 114, 80–85. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.05.009

Geraci, J.I., Garciarena, A.D., Gagliostro, G.A., Beauchemin, K.A., Colombatto, D., 2012. Plant extracts containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminal environment, short term intake pattern and animal performance. Anim. Feed Sci. Technol. 176, 123–130. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.015

Gkarane, V., Brunton, N.P., Allen, P., Gravador, R.S., Claffey, N.A., Diskin, M.G., Fahey, A.G., Farmer, L.J., Moloney, A.P., Alcalde, M.J., Murphy, P., Monahan, F.J., 2019. Effect of finishing diet and duration on the sensory quality and volatile profile of lamb meat. Food Res. Int. 115, 54–64. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.063

González-Mas, M.C., Rambla, J.L., López-Gresa, M.P., Amparo Blázquez, M., Granell, A., 2019. Volatile compounds in citrus essential oils: A comprehensive review. Front. Plant Sci. 10, 1–18. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00012

Goodrich, R.D., Garrett, J.. E., Gast, D.R., Kirick, M.A., Larson, D.A., Meiske, J.. C., 1984. Influence of Monensin on the Performance of Cattle. J. Anim. Sci. 58, 1484–1498.

Guenther, E., Althausen, D., 1948. The essential oils, 1st ed. Van Nostrand, New York.

Hoffmann, C., Evans, A.C., 1911. The use of spices as preservatives. Ind. Eng. Chem. 3, 835–838. https://doi.org/10.1021/ie50035a016

Hutton, P., White, C.L., Durmic, Z., Vercoe, P.E., 2009. Eremophila glabra is an Australian plant that reduces lactic acid accumulation in an in vitro glucose challenge designed to simulate lactic acidosis in ruminants. Animal 3, 1254–1263. https://doi.org/10.1017/s1751731109004789

Iauk, L., Lo Bue, A.M., Milazzo, I., Rapisarda, A., Blandino, G., 2003. Antibacterial activity of medicinal plant extracts against periodontopathic bacteria. Phyther. Res. 17, 599–604. https://doi.org/10.1002/ptr.1188

Jafari, S., Ebrahimi, M., Goh, Y.M., Rajion, M.A., Jahromi, M.F., Al-Jumaili, W.S., 2019. Manipulation of rumen fermentation and methane gas production by plant secondary Metabolites (saponin, tannin and essential oil) – a review of ten-year studies. Ann. Anim. Sci. 19, 3–29. https://doi.org/10.2478/aoas-2018-0037

Jahani-Azizabadi, H., Durmic, Z., Vadhanabhuti, J., Vercoe, P., 2019. Effect of some australian native shrubs essential oils on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet. J. Anim. Plant Sci. 29, 8–15.

Jenkins, T.C., Fellner, V., McGuffey, R.K., 2003. Monensin by fat interactions on trans fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. J. Dairy Sci. 86, 324–330. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73609-1

Joyner, A.E., Brown, L.J., Fogg, T.J., Rossi, R.T., 1979. Effect of Monensin on Growth, Feed Efficiency and Energy Metabolism of Lambs. J. Anim. Sci. 48, 1065–1069. https://doi.org/10.2527/jas1979.4851065x

Judžentiene, A., Budiene, J., 2009. Analysis of the chemical composition of fower essential oils from Arnica montana of Lithuanian origin. Chemija 20, 190–194.

Khan, M., Khan, F.K., Moneeba, S., Nisa, M., Manzoor, R., Ullah, K., Mehmood, Z., Sajijad, A., Ayub, M., Hassan, N., Rasool, A., 2019. Biosynthesis of C 10 H 16 (Limonene) By Mevalonate Pathways and Its Pharmacological Applications. Int. J. Biol. Biotechnol. 16, 9–21.

Khiaosa-Ard, R., Zebeli, Q., 2013. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. J. Anim. Sci. 91, 1819–1830. https://doi.org/10.2527/jas.2012-5691

Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigand, H., Weis, N., 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. J. Essent. Oil Res. 1, 119–128. https://doi.org/10.1080/10412905.1989.9697767

Koo, H., Gomes, B.P.F.A., Rosalen, P.L., Ambrosano, G.M.B., Park, Y.K., Cury, J.A., 2000. In vitro antimicrobial activity of propolis and Arnica montana against oral pathogens. Arch. Oral Biol. 45, 141–148. https://doi.org/10.1016/S0003-9969(99)00117-X

Kotsampasi, B., Tsiplakou, E., Christodoulou, C., Mavrommatis, A., Mitsiopoulou, C., Karaiskou, C., Sossidou, E., Fragioudakis, N., Kapsomenos, I., Bampidis, V.A., Christodoulou, V., Zervas, G., 2018. Effects of dietary orange peel essential oil supplementation on milk yield and composition, and blood and milk antioxidant status of dairy ewes. Anim. Feed Sci. Technol. 245, 20–31. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.08.007

Kriplani, P., Guarve, K., Baghael, U.S., 2017. Arnica montana L. – a plant of healing: review. J. Pharm. Pharmacol. 69, 925–945. https://doi.org/10.1111/jphp.12724

Kryvtsova, M. V., Trush, K., Koščová, J., Eftimova, J., 2019. Antimicrobial, Antioxidant and Some Biochemical Properties of Arnica Montana L. Bull. Probl. Biol. Med. 3, 268. https://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-3-152-268-273

Kuss, F., Restle, J., Deschamps, F., Kosloski, G. V., Santos, A.P., Menezes, L.F.G., Fiamoncini, J., 2006. Fatty acid profile and meat quality of cull cows feedlot finished receiving diet with or without monensin. Ciência Rural 36, 1518–1523.

Ladeira, M.M., Santarosa, L.C., Chizzotti, M.L., Ramos, E.M., Neto, O.R.M., Oliveira, D.M., Carvalho, J.R.R., Lopes, L.S., Ribeiro, J.S., 2014. Fatty acid profile, color and lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. Meat Sci. 96, 597–605. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.062

Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P.J., Nychas, G. -J. E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil,

thymol and carvacrol. J. Appl. Microbiol. 91, 453–462. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x

Leng, R.A., Steel, J.W., Luick, J.R., 1967. Contribution of propionate to glucose synthesis in sheep. Biochem. J. 103, 785–790. https://doi.org/10.1042/bj1030785

Lin, B., Lu, Y., Salem, A.Z.M., Wang, J.H., Liang, Q., Liu, J.X., 2013. Effects of essential oil combinations on sheep ruminal fermentation and digestibility of a diet with fumarate included. Anim. Feed Sci. Technol. 184, 24–32. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.05.011

Lodi, F., Ferreira, E.M., Biava, J.S., Martins, M.C., Assis, R.G., Moletta, J.L., Araujo, L.C., Pedrosa, V.B., Polizel, D.M., Pires, A.V., 2019. Lemon grass essential oil (cymbopogum flexuosus) in high- concentrate diets for lambs. Ach. Vet. Sci. 24, 33–47.

Loncke, C., Nozière, P., Vernet, J., Lapierre, H., Bahloul, L., Al-Jammas, M., Sauvant, D., Ortigues-Marty, I., 2020. Net hepatic release of glucose from precursor supply in ruminants: A meta-analysis. Animal 14, 1422–1437. https://doi.org/10.1017/S1751731119003410

Lourenço, M., Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Fievez, V., 2008. Effects of saponins, quercetin, eugenol, and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. J. Anim. Sci. 86, 3045–3053. https://doi.org/10.2527/jas.2007-0708

Lourenço, M., Falchero, L., Tava, A., Fievez, V., 2009. Alpine vegetation essential oils and their effect on rumen lipid metabolism in vitro, in: Chilliard, Y., Glasser, F., Faulconnier, Y., Bocquier, F., Doreau, M., Veissier, I. (Eds.), Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, and Effects of Nutrition on Reproduction and Welfare. pp. 88–89.

Lourenço, M., Ramos-Morales, E., Wallace, R.J., 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. Animal 4, 1008–1023. https://doi.org/10.1017/S175173111000042X

Loza-Tavera, H., 1999. Monoterpenes in Essential Oils 49–62. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4729-7_5

Macheboeuf, D., Morgavi, D.P., Papon, Y., Mousset, J.L., Arturo-Schaan, M., 2008. Dose-response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 335–350. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.044

Maftei, D.-E., 2019. An overview on the importance , spread , sustainable cultivation and preservation of the mountain arnica 119–122.

McGuffey, R.K., Richardson, L.F., Wilkinson, J.I.D., 2001. Ionophores for Dairy Cattle: Current Status and Future Outlook. J. Dairy Sci. 84, E194–E203. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(01)70218-4

McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beever, D.A., Newbold, C.J., 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. Appl. Environ. Microbiol. 69, 5011–5014. https://doi.org/10.1128/AEM.69.8.5011-5014.2003

Meschiatti, M.A.P., Gouvêa, V.N., Pellarin, L.A., Batalha, C.D.A., Biehl, M. V., Acedo, T.S., Dórea, J.R.R., Tamassia, L.F.M., Owens, F.N., Santos, F.A.P., 2019. Feeding the combination of essential oils and exogenous α-amylase increases performance and carcass production of finishing beef cattle. J. Anim. Sci. 97, 456–471. https://doi.org/10.1093/jas/sky415

Mirzaei-Alamouti, H., Moradi, S., Shahalizadeh, Z., Razavian, M., Amanlou, H., Harkinezhad, T., Jafari-Anarkooli, I., Deiner, C., Aschenbach, J.R., 2016. Both monensin and plant extract alter ruminal fermentation in sheep but only monensin affects the expression of genes involved in acid-base transport of the ruminal epithelium. Anim. Feed Sci. Technol. 219, 132–143. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.009

Moura, L. V., Oliveira, E.R., Fernandes, A.R.M., Gabriel, A.M.A., Silva, L.H.X., Takiya, C.S., Cônsolo, N.R.B., Rodrigues, G.C.G., Lemos, T., Gandra, J.R., 2017. Feed efficiency and carcass traits of feedlot lambs supplemented either monensin or increasing doses of copaiba (Copaifera spp.) essential oil. Anim. Feed Sci. Technol. 232, 110–118. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.08.006

Nagaraja, T.G., 1995. Ionophores and antibiotics in ruminants, in: Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding.

Nagaraja, T.G., Avery, T.B., Bartley, E.E., Roof, S.K., Dayton, A.D., 1982. Effect of lasalocid, monensin or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. J. Anim. Sci. 54, 649–658. https://doi.org/10.2527/jas1982.543649x

Nagaraja, T.G., Lechtenberg, K.F., 2007. Acidosis in Feedlot Cattle. Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract. 23, 333–350. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.04.002

Nehme, R., Andrés, S., Pereira, R.B., Jemaa, M.B., Bouhallab, S., Ceciliani, F., López, S., Rahali, F.Z., Ksouri, R., Pereira, D.M., Abdennebi-Najar, L., 2021. Essential oils in livestock: From health to food quality. Antioxidants 10, 1–42. https://doi.org/10.3390/antiox10020330

Newbold, C.J., McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 114, 105–112. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.12.006

Nockels, C.F., Jackson, D.W., Berry, B.W., 1978. Optimum Level of Monensin for Fattening Lambs. J. Anim. Sci. 47, 788–790. https://doi.org/10.2527/jas1978.474788x

NRC, 2007. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids and new world camelids. National Research Council, Washington.

Obón, C., Rivera, D., Verde, A., Fajardo, J., Valdés, A., Alcaraz, F., Carvalho, A.M., 2012. Árnica: A multivariate analysis of the botany and ethnopharmacology of a

medicinal plant complex in the Iberian Peninsula and the Balearic Islands. J. Ethnopharmacol. 144, 44–56. https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.08.024

Ogunade, I., Schweickart, H., Andries, K., Lay, J., Adeyemi, J., 2018. Monensin alters the functional and metabolomic profile of rumen microbiota in beef cattle. Animals 8. https://doi.org/10.3390/ani8110211

Orskov, E.R., Ryle, M., 1990. Energy Nutrition in Ruminants, Elsevier S. ed. Barking-UK.

Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., Gill, D.R., 1997. The Effect of Grain Source and Grain Processing on Performance of Feedlot Cattle: A Review. J. Anim. Sci. 75, 868–879. https://doi.org/10.2527/1997.753868x

Owens, F.N., Soderlund, S., 2006. RUMINAL AND POSTRUMINAL STARCH DIGESTION BY CATTLE. Cattle Grain Process. Symp. Oklahoma State Univ. Stillwater, OK 116–128.

Parvar, R., Ghoorchi, T., Kashfi, H., Parvar, K., 2018. Effect of Ferulago angulata (Chavil) essential oil supplementation on lamb growth performance and meat quality characteristics. Small Rumin. Res. 167, 48–54. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.07.026

Patra, A.K., 2011. Effects of essential oils on Rumen fermentation, microbial ecology and Ruminant production. Asian J. Anim. Vet. Adv. https://doi.org/10.3923/ajava.2011.416.428

Perricone, M., Arace, E., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A., 2015. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. Front. Microbiol. 6, 76. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00076

Pessoa, L.M., Morais, S.M., Bevilaqua, C.M.L., Luciano, J.H.S., 2002. Anthelmintic activity of essential oil of Ocimum gratissimum Linn. and eugenol against Haemonchus contortus. Vet. Parasitol. 109, 59–63. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00253-4

Pires, T.C.M., Ribeiro, M.G.T.C., Machado, A.S.C., 2018. Extração do R-(+)-limoneno a partir das cascas de laranja: avaliação e otimização da verdura dos processos de extração tradicionais 41, 355–365.

Polizel, D.M., Martins, A.S., Miszura, A.A., Ferraz Júnior, M.V. de C., Bertoloni, A.V., Oliveira, G.B., Barroso, J.P.R., Ferreira, E.M., Pires, A.V., 2021. Low doses of monensin for lambs fed diets containing high level of ground flint corn. Sci. Agric. 78, 1–8. https://doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0263

Raza, A., Ali, S., Qureshi, M.Z., Raza, A, ., Rasheed, S., Ashraf, M., Yasmeen, F., 2021. View of Clinical Efficacy Of Homeopathic Remedy “Arnica Montana”: A Systematic Review. Int. J. Homeopath. Complement. Altern. Med.

Rivaroli, D.C., Guerrero, A., Velandia Valero, M., Zawadzki, F., Eiras, C.E., Campo, M.M., Sañudo, C., Mendes Jorge, A., Nunes do Prado, I., 2016. Effect of essential

oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. Meat Sci. 121, 278–284. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.017

Rodrigues, P.H.M., 2016. Control and Manipulation of Ruminal Fermenntation, in: Millen, D.D., Arrigoni, M.B., Pacheco, R.D.L. (Eds.), Rumenology. pp. 157–187. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30533-2

Rofiq, M.N., 2016. The Use of Plant Essential Oils as Feed Additives for Ruminants. Indones. Bull. Anim. Vet. Sci. 26, 9–16. https://doi.org/10.14334/wartazoa.v26i1.1269

Rooney, L.W., Pflugfelder, R., 1986. Factors Affecting Starch Digestibility with Special Emphasis on Sorghum and Corn. J. Anim. Sci. 63, 1607–1623.

Russell, J.B., Strobel, H.J., 1988. Effects of additives on in vitro ruminal fermentation: a comparison of monensin and bacitracin, another gram-positive antibiotic. J. Anim. Sci. 66, 552–558. https://doi.org/10.2527/jas1988.662552x

Russell, J.B., Strobel, H.J., Chen, G.J., 1988. Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. Appl. Environ. Microbiol. 54, 872–877. https://doi.org/10.1128/aem.54.4.872-877.1988

Samii, S.S., Wallace, N., Nagaraja, T.G., Engstrom, M.A., Miesner, M.D., Armendariz, C.K., Titgemeyer, E.C., 2016. Effects of limonene on ruminal fusobacterium necrophorum concentrations, fermentation, and lysine degradation in cattle. J. Anim. Sci. 94, 3420–3430. https://doi.org/10.2527/jas.2016-0455

Sañudo, C., Alfonso, M., Sánchez, A., Delfa, R., Teixeira, A., 2000. Carcass and meat quality in light lambs from different fat classes in the EU carcass classification system. Meat Sci. 56, 89–94. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00026-7

Schelling, G.T., 1984. Monensin mode of action in the rumen. J. Anim. Sci. 58, 1518–1527. https://doi.org/https://doi.org/10.2527/jas1984.5861518x

Silva-Kazama, D.C., dos Santos, G.T., Pintro, P.T.M., Visentainer, J.V., Kazama, R., Petit, H.V., de Marchi, F.E., 2010. Efeito do armazenamento sobre o perfil de ácidos graxos da manteiga de vacas alimentadas com dietas contendo linhaça inteira ou moída, com ou sem monensina sódica. Rev. Bras. Zootec. 39, 2297–2303. https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001000028

Silva, M.T.S.P., Oliveira, B.I.C., Aldana, J.J.A., Carvalho, M.B., Ollhoff, R.D., Sotomaior, C.S., 2021. Adverse reactions after orange essential oil administration to lambs. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports 25, 23–25. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100593

Silva Prade, J., Bálsamo, E.C., Machado, F.R., Poetini, M.R., Bortolotto, V.C., Araújo, S.M., Londero, L., Boeira, S.P., Sehn, C.P., de Gomes, M.G., Prigol, M., Cattelan Souza, L., 2020. Anti-inflammatory effect of Arnica montana in a UVB radiation-induced skin-burn model in mice. Cutan. Ocul. Toxicol. 39, 126–133. https://doi.org/10.1080/15569527.2020.1743998

Silvestre, A.M., Millen, D.D., 2021. The 2019 Brazilian Survey On Nutritional Practices Provided By Feedlot Cattle Consulting Nutritionists. Rev. Bras. Zootec. 50, 1–25. https://doi.org/10.37496/RBZ5020200189

Smeti, S., Hajji, H., Mekki, I., Mahouachi, M., Atti, N., 2018. Effects of dose and administration form of rosemary essential oils on meat quality and fatty acid profile of lamb. Small Rumin. Res. 158, 62–68. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.10.007

Soltan, Y.A., Hashem, N.M., Morsy, A.S., El-Azrak, K.M., El-Din, A.N., Sallam, S.M., 2018. Comparative effects of Moringa oleifera root bark and monensin supplementations on ruminal fermentation, nutrient digestibility and growth performance of growing lambs. Anim. Feed Sci. Technol. 235, 189–201. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.021

Souza, K.A., Monteschio, J.O., Mottin, C., Ramos, T.R., Pinto, L.A.M., Eiras, C.E., Guerrero, A., Prado, I.N., 2019. Effects of diet supplementation with clove and rosemary essential oils and protected oils (eugenol, thymol and vanillin) on animal performance, carcass characteristics, digestibility, and ingestive behavior activities for Nellore heifers finished in feedl. Livest. Sci. 220, 190–195. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.12.026

Spanghero, M., Zanfi, C., Fabbro, E., Scicutella, N., Camellini, C., 2008. Effects of a blend of essential oils on some end products of in vitro rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 364–374. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.048

Sugier, P., Jakubowicz-Gil, J., Sugier, D., Kowalski, R., Gawlik-Dziki, U., Kolodziej, B., Dziki, D., 2020. Chemical Characteristics and Anticancer Activity of Essential Oil from Arnica Montana L. Rhizomes and Roots. Molecules 25, 1284. https://doi.org/doi:10.3390/molecules25061284

Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Tylutki, T.P., 2003. Potential Environmental Benefits of Ionophores in Ruminant Diets. J. Environ. Qual. 32, 1591–1602. https://doi.org/10.2134/jeq2003.1591

Tedeschi, L.O., Gorocica-Buenfil, M.A., 2018. An assessment of the effectiveness of virginiamycin on liver abscess incidence and growth performance in feedlot cattle: A comprehensive statistical analysis. J. Anim. Sci. 96, 2474–2489. https://doi.org/10.1093/jas/sky121

Torres, R.N.S., Moura, D.C., Ghedini, C.P., Ezequiel, J.M.B., Almeida, M.T.C., 2020. Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and performance of sheep. Small Rumin. Res. 189, 106148. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106148

Torres, R.N.S., Paschoaloto, J.R., Ezequiel, J.M.B., da Silva, D.A.V., Almeida, M.T.C., 2021. Meta-analysis of the effects of essential oil as an alternative to monensin in diets for beef cattle. Vet. J. 272, 105659. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105659

Ultee, A., Bennik, M.H.J., Moezelaar, R., 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus.

Appl. Environ. Microbiol. 68, 1561–1568. https://doi.org/10.1128/aem.68.4.1561-1568.2002

Van Soest, P.J., 1994. Nutritional ecology of the ruminant, 2nd ed. Cornell Univesity Press.

Vasta, V., Aouadi, D., Brogna, D.M.R., Scerra, M., Luciano, G., Priolo, A., Ben Salem, H., 2013. Effect of the dietary supplementation of essential oils from rosemary and artemisia on muscle fatty acids and volatile compound profiles in Barbarine lambs. Meat Sci. 95, 235–241. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.12.021

Vasta, V., Bessa, R.J.., 2012. Manipulating Ruminal Biohydrogenation by the Use of Plants Bioactive Compounds, in: Dietary Phytochemicals and Microbes. Springer, pp. 263–284. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3926-0

Wallace, R.. j., 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proc. Nutr. Soc. 63, 621–629. https://doi.org/10.1079/PNS2004393

Wallace, R.J., McEwan, N.R., McIntosh, F.M., Teferedegne, B., Newbold, C.J., 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. Asian-Australasian J. Anim. Sci. 15, 1458–1468. https://doi.org/10.5713/ajas.2002.1458

Wang, L.M., Huang, S., Chalupa-Krebzdak, S., Vásquez Mejía, S.M., Mandell, I.B., Bohrer, B.M., 2020. Effects of essential oils and(or) benzoic acid in beef finishing cattle diets on the fatty acid profile and shelf life stability of ribeye steaks and ground beef. Meat Sci. 168, 108195. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108195

Wang, X., Liu, W., Xin, C., Zheng, Y., Cheng, Y., Sun, S., Li, R., Zhu, X.G., Dai, S.Y., Rentzepis, P.M., Yuan, J.S., 2016. Enhanced limonene production in cyanobacteria reveals photosynthesis limitations. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 113, 14225–14230. https://doi.org/10.1073/pnas.1613340113

Xu, L., He, M.L., Liang, R.F., McAllister, T.A., Yang, W.Z., 2014. Effects of grain source and monensin level on growth performance, carcass traits and fatty acid profile in feedlot beef steers. Anim. Feed Sci. Technol. 198, 141–150. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.10.015

Yang, W.Z., Ametaj, B.N., Benchaar, C., Beauchemin, K.A., 2010. Dose response to cinnamaldehyde supplementation in growing beef heifers: Ruminal and intestinal digestion. J. Anim. Sci. 88, 680–688. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1652

3 ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA (*Citrus sinensis*) EM DIETAS PARA CORDEIROS EM TERMINAÇÃO: CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, BALANÇO DE NITROGÊNIO E CARACTERÍSTICAS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL

Resumo

O óleo essencial de laranja (OEL) demonstra efeitos promissores sobre a fermentação ruminal. Porém, mais pesquisas são necessárias para que o OEL seja empregado nos sistemas de produção de ruminantes. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de teores de OEL como aditivo alimentar sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, o balanço de nitrogênio e as características de fermentação ruminal em cordeiros confinados. Foram utilizados dez cordeiros mestiços Dorper x Santa Inês, com peso médio inicial de 38,8 ± 2,58 kg (média ± desvio padrão) e aproximadamente um ano, castrados e canulados no rúmen. Os cordeiros foram distribuídos em delineamento em quadrado latino duplo 5 x 5. Os tratamentos experimentais foram: **L0** - controle negativo (dieta padrão sem inclusão de aditivo); **L100** - inclusão de 100 mg de OEL/kg de MS; **L500** - inclusão de 500 mg de OEL/kg de MS; **L1000** - inclusão de 1000 mg de OEL/kg de MS; **M25** - controle positivo (dieta contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS). Todas as dietas continham 90% de concentrado e 10% de volumoso (feno de *Coastcross*). O aumento nos teores de OEL não afetou o consumo dos nutrientes (MS, MO, PB, EE, FDN, FDA, CNF e NDT). No entanto, o tratamento M25 teve menor consumo de MS, MO, PB, FDN, CNF e NDT em relação aos tratamentos com OEL ($P < 0,05$). Não houve diferença para o consumo de nutrientes na comparação entre M25 e L0. Houve redução linear ($P < 0,01$) na digestibilidade do CNF com o aumento de OEL na dieta, a digestibilidade dos demais nutrientes não foi afetada pelos teores de OEL. A dieta M25 teve menor ($P < 0,01$) digestibilidade do CNF comparado as dietas com OEL e à L0. O consumo de nitrogênio (N) não foi afetado pelos teores de OEL. Porém, as dietas com OEL tiveram maior ($P = 0,03$) consumo de N em relação à dieta M25. O consumo de N não diferiu entre M25 e L0. O N absorvido não foi influenciado pelos teores de OEL. A dieta M25 teve menor ($P < 0,05$) absorção de N quando comparada as dietas com OEL e L0. A quantidade de N retido (g/dia, g/kg de N ingerido e g/kg de N absorvido) não diferiram entre os tratamentos. A concentração total e a proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e a relação acetato:propionato (A:P) não foram afetadas pelos teores de OEL. As características de fermentação ruminal não diferiram entre as dietas com OEL e M25. A concentração total de AGCC foi menor ($P = 0,05$) na dieta M25 em relação à L0. Nessa mesma comparação, não houve diferença na proporção molar dos AGCC e na relação A:P. O pH ruminal, a área abaixo do pH 5,5, a área total abaixo da curva e a concentração de amônia ruminal não diferiram entre os tratamentos. Em conclusão, nenhum dos teores de OEL demostrou efeito adicional positivo sobre as variáveis estudadas. O OEL agiu similarmente a monensina sódica na dose de 25 mg/kg de MS no que se refere à modulação da fermentação ruminal e a estabilidade do pH ruminal, o que possibilita indicar o OEL como possível substituto a monensina sódica na dieta de cordeiros em terminação sem comprometer o CMS.

Palavras-chave: Aditivo, D-limoneno, Metabolismo, Monensina, Ovinos, Rúmen.

Abstract

Orange essential oil (OEO) shows promising effects on rumen fermentation. However, more research is needed before OEO can be used in ruminant production systems. The objective of this study was to evaluate the effect of OEO contents as a feed additive on nutrient intake and digestibility, nitrogen balance, and rumen fermentation characteristics in confined lambs. Ten Dorper x Santa Inês crossbred lambs with an average initial weight of 38.8 ± 2.58 kg (mean ± standard deviation), approximately one-year-old, castrated, and cannulated in the rumen were used. The lambs were distributed in a double Latin square design 5 x 5. The experimental treatments were: **L0** - negative control (diet without additive inclusion); **L100** - inclusion of 100 mg OEO/kg DM; **L500** - 500 mg OEO /kg DM; **L1000** - 1000 mg OEO/kg DM; **M25** - positive control (25 mg sodium monensin /kg DM). All diets contained 90% concentrate and 10% roughage (Coastcross hay). The increase in OEO content did not affect nutrient intake (DM, OM, CP, EE, NDF, ADF, NFC, and TDN). However, the M25 had lower DM, OM, CP, NDF, NFC, and TDN intake than the OEO treatments ($P < 0.05$). There was no difference in nutrient intake in the comparison between M25 and L0. There was a linear ($P < 0.01$) reduction in NFC digestibility with increasing OEO in the diet, digestibility of the other nutrients was not affected by OEO contents. The M25 had lower ($P < 0.01$) digestibility of NFC compared to diets with OEO and L0. Nitrogen (N) intake was not affected by OEO contents. However, diets with OEO had higher ($P = 0.03$) N intake compared to the M25. The N intake did not differ between M25 and L0. Absorbed N was not influenced by OEO content. The M25 diet had lower ($P < 0.05$) N uptake when compared to the OEL and L0 diets. The amount of N retained (g/day, g/kg N intake, and g/kg N absorption) did not differ between treatments. Total concentration and the molar ratio of short-chain fatty acids (SCFA) and acetate:propionate (A:P) ratio were not affected by OEO contents. Rumen fermentation characteristics did not differ between OEO and M25 diets. The total concentration of SCFA was lower ($P = 0.05$) in the M25 diet compared to L0. In this same comparison, there was no difference in the molar ratio of SCFA and the A:P ratio. Rumen pH, the area under pH 5.5, the total area under the curve, and rumen ammonia concentration did not differ among treatments. In conclusion, none of the OEO contents showed additional positive effects on the variables studied. The OEO acted similarly to sodium monensin at a dose of 25 mg/kg DM with regard to modulation of rumen fermentation and rumen pH stability, which allows indicating OEO as a possible replacement for sodium monensin in the diet of feedlot lambs without compromising the DMI.

Keywords: Additive, D-limonene, Metabolism, Monensin, Sheep, Rumen.

3.1 Introdução

A monensina sódica é o principal aditivo ionóforo utilizado em dietas para ruminantes. Sua ampla utilização se deve por melhorar os parâmetros de fermentação ruminal, a digestibilidade dos nutrientes e a eficiência alimentar (Duffield et al., 2012; Goodrich et al., 1984; Russel; Strobel, 1989). Entretanto, devido a questões de saúde pública, a inclusão de ionóforos tem sido cada vez mais questionada (Abadi et al., 2019), uma vez que esses são considerados antibióticos e podem contribuir para o surgimento de resistência bacteriana aos antibióticos utilizados na medicina humana (Ben et al., 2019; He et al., 2020). Diante desse cenário, a sociedade científica passou a buscar alternativas que possam substituir os ionóforos e sejam seguras ao consumo humano. Os óleos essenciais são uma alternativa natural e passível de substituir os ionóforos, pois possuem efeito antimicrobiano e podem modular a fermentação ruminal e melhorar o desempenho animal (Benchaar et al., 2008; Torres et al., 2021, 2020).

O óleo essencial de laranja (OEL) destaca-se devido a sua elevada disponibilidade no mercado, como também pela elevada concentração em D-limoneno (> 90%; González-Mas et al., 2019), composto que cada vez mais é utilizado em diversas áreas da indústria (Ciriminna et al., 2014). Estudos utilizando OEL como aditivo na alimentação de ruminantes são escassos. Dos poucos relatos encontrados na literatura, o OEL foi destacado por modular o consumo de matéria seca de ovelhas leiteiras quando o teor de 265 mg/kg de MS de concentrado foi utilizado (Kotsampasi et al., 2018). No mesmo estudo, o teor de 399 mg/kg de MS de concentrado foi responsável por aumentar a eficiência alimentar. Trabalhos avaliando o composto majoritário do OEL (D-limoneno) apontaram o aumento na proporção molar de propionato e redução na produção de metano (Crane et al., 1957). Sallam e Abdelgaleil (2010) observaram em experimento *in vitro* utilizando uma dieta com 50% de concentrado e 50% de forragem, que o aumento nos teores de D-limoneno (0, 30, 45, e 60 µL/75 mL de fluido ruminal) reduziu a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), a produção de metano, a concentração de amônia no rúmen e a digestibilidade da MS e da MO. Enquanto, Rofiq et al. (2021) destacaram que o aumento nas doses de D-limoneno (100, 200 e 300 ppm) reduziu a produção de metano e a digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN) em experimento *in vitro*.

Os resultados *in vitro* deixam evidente que OEL pode atuar como agente antimicrobiano e modular os produtos da fermentação ruminal. Entretanto, muito pouco se sabe a respeito dos efeitos do OEL em experimentos *in vivo*, uma vez que as condições *in vivo* não condizem com as condições controláveis nos experimentos *in vitro*. A hipótese desse trabalho é que o OEL iria exercer efeito antimicrobiano similar a monensina sódica no rúmen e, por consequência, modular a fermentação ruminal, aumentar a digestibilidade dos nutrientes e a retenção de nitrogênio.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de teores crescentes de OEL em dietas ricas em concentrado para cordeiros sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, o balanço de nitrogênio e as características de fermentação ruminal. A partir dos resultados será possível definir a melhor teor de OEL, como também comparar os efeitos do OEL com a monensina sódica.

3.2 Materiais e métodos

3.2.1 Animais e instalações experimentais

O experimento foi conduzido nas instalações para estudos metabólicos do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP (22° 42′ 24″ S e 47° 37′ 53″ O), Brasil. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/ESALQ), protocolo n.º 5160100220.

Foram utilizados dez borregos castrados, mestiços (Dorper × Santa Inês), com peso médio inicial de 38,8 ± 2,58 kg (média ± desvio padrão) e aproximadamente um ano, canulados no rúmen. Um mês antes do início do experimento, os animais foram preparados cirurgicamente para colocação das cânulas (Kehl, São Carlos, São Paulo, Brasil). Após a cicatrização, os cordeiros foram alojados individualmente em gaiolas para ensaios de metabolismo com dimensões de 1,30 × 0,55 m, providas de cocho, bebedouro e sistema para colheita de fezes e urina. As gaiolas foram mantidas em ambiente coberto, ao abrigo da chuva e da luz solar direta.

3.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar

Os animais foram distribuídos em quadrado latino duplo 5 × 5, sendo cinco tratamentos e cinco períodos experimentais. O experimento teve duração de 135 dias, divididos em cinco períodos de 27 dias, dos quais 21 dias foram destinados à adaptação dos animais aos tratamentos experimentais, cinco dias para mensuração do consumo de matéria seca (CMS), colheita de fezes e urina, e um dia para colheita de fluido ruminal.

As dietas experimentais foram isoenergéticas e isonitrogenadas, contendo 90% de concentrado e 10% de volumoso (feno de *Coastcross*). A formulação foi realizada utilizando o "*Small Ruminant Nutrition System*" (SRNS; Cannas et al., 2004; Tabela 1). Os tratamentos experimentais foram: **L0** - controle negativo (dieta padrão sem inclusão de aditivo); **L100** - inclusão de 100 mg de OEL/kg de MS; **L500** - inclusão de 500 mg de OEL/kg de MS; **L1000** - inclusão de 1000 mg de OEL/kg de MS; **M25** - controle positivo (dieta contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS; Rumensin 100, Elanco do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil).

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais (% da MS).

Item	Tratamentos[1]				
	L0	**L100**	**L500**	**L1000**	**M25**
Ingredientes					
Feno de *Coastcross*	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho moído	72,0	71,9	71,9	71,9	71,9
Farelo de soja	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0
Ureia	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Cloreto de amônio	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Mistura mineral[2]	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
OEL[3], mg/kg de MS	0	100	500	1000	-
Monensina[4], mg/kg de MS	-	-	-	-	25
Composição química[5]					
Matéria seca	85,0 ± 0,52	85,7 ± 0,44	85,6 ± 0,55	85,4 ± 0,70	85,4 ± 0,93
Matéria orgânica	94,5 ± 0,28	94,7 ± 0,13	94,4 ± 0,19	94,4 ± 0,11	94,1 ± 0,36
Proteína bruta	16,2 ± 0,52	16,3 ± 0,26	16,4 ± 0,55	16,2 ± 0,41	16,2 ± 1,17
Fibra em detergente neutro	15,8 ± 1,27	15,8 ± 0,84	15,8 ± 1,02	16,0 ± 1,14	15,8 ± 1,06
Fibra em detergente ácido	6,3 ± 1,01	6,1 ± 0,74	6,0 ± 0,88	6,0 ± 0,79	6,2 ± 0,77
Extrato etéreo	3,4 ± 0,47	3,4 ± 0,47	3,4 ± 0,45	3,4 ± 0,47	3,4 ± 0,56
Carboidratos não fibrosos	58,9 ± 0,63	59,1 ± 0,33	58,7 ± 0,54	58,8 ± 0,23	57,7 ± 0,67
EM[6], Mcal/kg de MS	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9

[1]L0 (controle negativo) – dieta base, sem adição de aditivo; L100 – adição de 100 mg de OEL/kg de MS; L500 – adição de 500 mg de OEL/kg de MS; L1000 – adição de 1000 mg de OEL/kg de MS; M25 (controle positivo) – adição de 25 mg/kg de MS de monensina sódica. [2] Ca: 150 g/kg; P: 40 g/kg; Na: 118 g/kg; Mg: 8 g/kg; S: 19 g/kg; Cu: 300 mg/kg; Mn: 1.250 mg/kg; Zn: 6.480 mg/kg; I: 80 mg/kg; Co: 40 mg/kg; Se: 27 mg/kg; F: 400 mg/kg. [3]Óleo essencial de laranja: 95,1% de D-limoneno, 3,8% de mirceno e 1,1% de α-pineno (CP Kelco Brasil S/A – Matão, São Paulo, Brasil). [4] Rumensin 100 (monensina sódica, Elanco do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil). [5]Considera cinco amostras por tratamento (n = 5). [6]Estimada usando o *Small Ruminant Nutrition System* (Cannas et al., 2004).

3.2.3 Manejo alimentar e colheita de amostras

Amostras das dietas e dos ingredientes foram colhidas a cada batida de ração. A composição química dos ingredientes é descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais (% da MS).

Item[1]	Ingredientes		
	Feno de *Coastcross*	**Milho moído**	**Farelo de soja**
n	5	5	5
Matéria seca	82,9 ± 1,16	88,2 ± 0,76	87,9 ± 0,30
Matéria orgânica	91,3 ± 0,57	96,6 ± 0,76	93,4 ± 0,10
Proteína bruta	6,5 ± 0,70	9,2 ± 0,29	45,8 ± 0,65
Fibra em detergente neutro	74,3 ± 2,50	11,4 ± 0,47	11,5 ± 0,18
Fibra em detergente ácido	38,2 ± 1,45	2,4 ± 0,36	6,7 ± 0,30
Extrato etéreo	1,4 ± 0,25	3,6 ± 0,23	2,3 ± 0,21

[1]n: número de amostras.

O feno de *Coastcross* e o milho foram moídos utilizando triturador (Nogueira DPM – 4, Itapira, São Paulo, Brasil) com peneira com crivos de 10 mm. Todos os ingredientes das dietas L0 e M25 foram misturados utilizando misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato, Limeira, São Paulo, Brasil). Para a confecção das dietas L100, L500 e L1000, foi preparada uma pré-mistura (contendo apenas a fração concentrada da dieta) utilizando o mesmo misturador horizontal. As dietas foram oferecidas *ad libitum* diariamente às 7 horas da manhã na forma de ração total. No caso das dietas L100, L500 e L1000, o OEL foi pesado em balança analítica com acurácia de 0,0001 g (Sartorius BA11OS, Gottingen, Niedersachsen, Alemanha) e misturado à pré-mistura, sendo posteriormente o feno adicionado e homogeneizado à pré-mistura com OEL. Diariamente, as sobras foram pesadas em balança eletrônica com precisão de 1 g (Marte, LC 100, São Paulo, São Paulo, Brasil) e a quantidade ofertada foi ajustada com base no consumo do dia anterior, não permitindo que as sobras fossem superiores a 10% da quantidade ofertada.

3.2.4 Digestibilidade aparente dos nutrientes

Nos dias 22, 23, 24, 25 e 26 de cada período experimental, às 7 horas da manhã, as sobras foram pesadas, amostradas (10%) e armazenadas a -18 °C para

posterior análise e determinação do consumo de MS e dos nutrientes. Nesses mesmos dias e horário foi quantificada a produção fecal total. A colheita de fezes foi realizada por bolsas coletoras de lona, revestidas internamente com napa. As bolsas foram presas aos animais por meio de arreios. As fezes foram pesadas em balança eletrônica com precisão de 1 g (Marte LC 100, São Paulo, São Paulo, Brasil), amostradas (10%) e armazenadas a -18 °C para posterior análise e cálculo de digestibilidade.

3.2.5 Balanço de nitrogênio

Nos dias 22, 23, 24, 25 e 26 de cada período experimental, às 7 horas da manhã foi realizada a colheita total de urina, utilizando recipiente plástico contendo 50 mL de solução de ácido clorídrico a 50%, a fim de manter o pH abaixo de 3,0 e evitar perdas de nitrogênio. O volume total de urina foi registrado diariamente e uma amostra de 10% do volume total diário foi retida e armazenada a -18 ◦C.

3.2.6 Colheita de fluido ruminal

Amostras do fluido ruminal foram colhidas no dia 27 de cada período experimental. As colheitas foram realizadas em intervalos de quatro horas, sendo a hora zero o momento anterior ao fornecimento das dietas, e 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas após o arraçoamento. O conteúdo ruminal colhido de cada animal foi filtrado em tecido de náilon com 150 µm, sendo a fração sólida posteriormente devolvida ao rúmen. Em cada colheita foram obtidos aproximadamente 200 mL de fluido ruminal filtrado, o qual foi utilizado para a mensuração imediata do pH em pHmetro digital (Digimed DM20, São Paulo, São Paulo, Brasil). Após a determinação do pH, foram retiradas 3 alíquotas de 2,5 mL do fluido ruminal que foram imediatamente armazenadas em frascos plásticos e congeladas a -20 °C. As amostras de fluido ruminal foram utilizadas para determinação da concentração total e proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$).

3.2.7 Análises laboratoriais e cálculos

Após descongeladas, as amostras dos ingredientes, das dietas ofertadas, das sobras e das fezes foram secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas para determinação da MS à 55 °C. Posteriormente as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm. Após a moagem, as amostras foram secas em estufa a 105 °C por 24 horas para determinação da MS à 105 °C. A matéria mineral (MM) foi determinada através da incineração das amostras em mufla a 550 °C por 4 horas (AOAC, 1990), subtraindo a MM de 100, obteve-se a matéria orgânica (MO). A concentração de nitrogênio total foi obtida utilizando um aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, Michigan, EUA; AOAC, 1997). A proteína bruta (PB) foi calculada multiplicando a concentração de nitrogênio total por 6,25. A determinação da fração fibrosa foi realizada pelo método sequencial, utilizando α-amilase termoestável e sulfito de sódio para determinação da fibra em detergente neutro (FDN; Van Soest et al., 1991), e a fibra em detergente ácido (FDA; Goering; Van Soest, 1970), utilizando um aparelho Ankom A2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, Nova Iorque, EUA). O teor de extrato etéreo foi determinado utilizando um aparelho extrator Ankom XT15 (Ankom Tech Corp., Macedon, Nova Iorque, EUA). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados conforme a equação:

CNF (%) = 100% - (%FDN + %PB + %EE + %MM)

O NDT foi calculado por meio da equação:

NDT (%) = $\%PB_{dig.} + (\%EE_{dig.} \times 2{,}25) + \%FDN_{dig.} + CNF_{dig.}$

Para a determinação dos AGCC, 1,6 mL de fluido ruminal adicionado com 0,4 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico (25%) com ácido fórmico (98 – 100%) e 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno) foram centrifugados a 15.000g (Sorvall Superspeed RC2-B, Newton, Connecticut, EUA) por 15 min a 4 °C. Após a centrifugação 1,2 mL de cada amostra foi transferida para *vials* cromatográficos. Do extrato obtido foi injetado 1 µL em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies, Santa Clara, Califórnia, EUA) equipado com coluna capilar HP-FFAP (19091F-112; 25 m; 0,320 mm; 0,50 µm; J & W Agilent Technologies, Santa Clara, Califórnia, EUA). A injeção foi realizada de maneira automática, o gás de arraste foi o H_2 e mantido em fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e do detector foi de 260 °C. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 16,5 min dividido em três rampas de aquecimento, como segue: 80 °C (1 min), 120 °C (20 °C/min; 3 min), 205 °C (10 °C/min; 2 min). A concentração

dos AGCC (mM) foi determinada com base em uma curva de calibração externa. Para análise estatística, os dados foram transformados para proporção molar (mM/100mM), ou seja, a relação entre a quantia de um determinado AGCC e o total observado.

A área total de pH sob a curva e a área abaixo do pH 5,5 foram calculadas conforme descrito por Maulfair et al. (2013).

A concentração de N-NH_3 foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitura em leitor de microplacas (BIO – RAD, Hercules, Califórnia, EUA), utilizando-se filtro para absorbância de 550 nm.

3.2.8 Caracterização dos compostos presentes no óleo essencial

A caracterização do óleo essencial de laranja (CP Kelco Brasil S/A – Matão, São Paulo, Brasil) foi realizada no Laboratório de Óleos e Gorduras do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN/ESALQ) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil. A composição do óleo essencial de laranja é descrita na Tabela 3.

Tabela 3. Composição do óleo essencial de laranja.

Composto[1]	**%**
D-limoneno	95,1
Mirceno	3,8
α-pineno	1,1

[1]Quantidade relativa dos compostos identificados com base na área de cada pico no cromatograma.

A identificação dos compostos voláteis foi realizada em cromatografia gasosa/espectrometria de massa (GC/MS) em um GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu Corp., Tóquio, Japão). Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; metil silicone 5% como fase estacionária; Bellefonte, Pensilvânia, EUA). O gás de arraste utilizado foi o hélio no fluxo de 1,0 mL/min. O espectro de massa foi adquirido via ionização a 70 eV na faixa de 40 a 500 *m/z*. Amostras de 1 µL foram injetadas em modo split. As temperaturas do injetor e detector foram de 220 a 230 °C, respectivamente. A rampa de temperatura começou em 50 °C e mantida por 1,5 min, seguida de 200 °C a 4 °C/min e 240 °C a 10 °C/min, mantida por 7 min. Para identificação dos compostos voláteis, os dados (tempo de retenção e área no TIC) foram processados usando o software GCMS Solution (versão 4.20) (Shimadzu, Tóquio, Japão). A identificação foi feita por similaridade com dados da

biblioteca (WILEY8.LIB e FFNSC1.3.lib) e por cálculo do índice de retenção linear (LRI) por corrida de série de alcanos C7-C30 (Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA).

3.2.9 Análise estatística

Os dados de características de fermentação ruminal foram analisados como medidas repetidas no tempo usando o procedimento MIXED do SAS (1999). Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos resíduos e remoção de outliers. A homogeneidade das variâncias foi verificada pelo teste de Levene. O modelo estatístico para as medidas repetidas foi: $Y = \mu + A_i + T_j + e_{ij} + K + T_j \times K + P_l + Q_m + e_{ijklm}$, em que μ = média, A_i = efeito de animal (i = 1 a 5), T_j = efeito de tratamento (j = 1 a 5), e_{ij} = erro residual A, K = efeito de horas após a alimentação, $T_j \times K$ = efeito de interação entre tratamentos e horas após a alimentação, P_l = efeito de período (l = 1 a 5), Q_m = efeito de quadrado latino e e_{ijklm} = erro residual B. Para os dados de consumo e digestibilidade dos nutrientes, e balanço de nitrogênio foi utilizado o seguinte modelo: $Y = \mu + A_i + T_j + e_{ij} + P_l + Q_m + e_{ijl}$, em que: μ = média geral, A_i = efeito de animal (i = 1 a 5), T_j = efeito de tratamento (j = 1 a 5), e_{ij} = erro residual A, P_l = efeito de período (l = 1 a 5), Q_m = efeito de quadrado latino e e_{ijlm} = erro residual B. A matriz de covariância que melhor se ajustou aos conjuntos de dados foi a simétrica composta (CS). As médias de cada tratamento foram obtidas utilizando o comando LSMEANS. Os efeitos dos teores de inclusão do OEL (L0, L100, L500 e L1000) nas dietas foram avaliados por meio de contrastes ortogonais, linear (L) e quadrático (Q). O PROC IML do SAS (1999) foi usado para obter os coeficientes apropriados para os contrastes ortogonais. Para comparar o efeito dos tratamentos foram realizados dois contrastes: 1 – dieta com monensina (controle positivo) *vs*. dieta sem aditivo (controle negativo) (M25 *vs.* L0) e 2 – dietas com OEL *vs*. dieta com monensina (OEL *vs.* M25). Os efeitos dos períodos e da interação entre os tratamentos e os períodos foram definidos pelo teste F da análise de variância (ANOVA). Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,05$.

3.3 Resultados

3.3.1 Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

Os resultados de consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes são apresentados na Tabela 4. O consumo dos nutrientes (MS, MO, PB, EE, FDN, FDA, CNF e NDT) não foi afetado quando os teores de OEL aumentaram na dieta. Não houve diferença para o consumo de nutrientes entre os tratamentos M25 e L0. As dietas contendo OEL tiveram maior consumo de MS, MO, PB, FDN, CNF e NDT quando comparadas ao tratamento M25 ($P < 0,05$). Porém, os consumos de EE e FDA não diferiram nesse mesmo contraste.

O aumento nos teores de OEL não afetou a digestibilidade aparente da MS, MO, PB, EE, FDN, FDA e NDT. No entanto, a digestibilidade aparente do CNF reduziu linearmente quando os teores de OEL aumentaram na dieta ($P < 0,01$). A digestibilidade aparente da MS, MO, PB, EE, FDA e NDT não diferiu entre M25 e L0. Para essa mesma comparação, a digestibilidade aparente da FDN e do CNF foi menor no tratamento M25 ($P < 0,05$). Na comparação entre as dietas com OEL e M25, a digestibilidade aparente da MS, MO, PB, EE, FDN, FDA e NDT não foi afetada. Mas para esse mesmo contraste, a digestibilidade aparente do CNF foi menor para M25 ($P < 0,001$).

Tabela 4. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes por cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica.

Itens[4]	Tratamentos[1]					EPM[2]	*P-valor*[3]			
	L0	L100	L500	L1000	M25		L	Q	M25 *vs.* L0	OEL *vs.* M25
Consumo (g/dia)										
MS	856	975	867	843	756	52,26	0,25	0,09	0,19	0,03
MO	808	925	821	798	718	49,37	0,24	0,08	0,20	0,03
PB	135	155	138	132	119	8,27	0,20	0,09	0,18	0,03
EE	29	33	29	27	26	1,79	0,36	0,09	0,18	0,06
FDN	140	158	142	140	124	8,44	0,24	0,14	0,20	0,03
FDA	56	61	55	53	50	3,32	0,48	0,24	0,23	0,11
CNF	504	579	511	499	448	31,26	0,26	0,08	0,22	0,03
NDT	761	868	778	761	674	51,21	0,25	0,14	0,24	0,04
Coeficiente de digestibilidade (%)										
MS	84,9	84,5	84,3	85,1	84,5	0,45	0,42	0,81	0,42	0,70
MO	86,9	86,6	86,4	87,6	87,4	0,73	0,16	0,89	0,50	0,31
PB	86,1	85,9	85,7	86,2	86,8	0,99	0,35	0,99	0,48	0,27
EE	69,8	62,5	66,7	66,7	71,9	3,71	0,28	0,22	0,69	0,14
FDN	65,6	65,5	62,1	63,5	59,6	1,94	0,84	0,54	0,04	0,08
FDA	44,3	44,1	40,7	50,2	48,9	2,50	0,06	0,53	0,19	0,16
CNF	97,9	98,1	98,2	97,5	97,2	0,18	<0,01	0,68	<0,01	<0,001
NDT	84,9	84,5	84,3	85,2	84,4	0,44	0,42	0,81	0,42	0,70

[1]L0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); L100: adição de 100 mg de OEL/kg de MS; L500: adição de 500 mg de OEL/kg de MS; L1000: adição de 1000 mg de OEL/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs.* L0: dieta controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo) *vs.* dieta com 25 mg de monensina /kg de MS (controle positivo); OEL *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de laranja *vs.* dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo). [4]MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; CNF: carboidrato não fibroso; NDT: nutrientes digestíveis totais.

3.3.2 Balanço de nitrogênio

Os resultados do balanço de nitrogênio são apresentados na Tabela 5. O consumo de nitrogênio (N) não foi afetado pelo aumento na inclusão de OEL na dieta. O consumo de N entre M25 e L0 não diferiu. No entanto, as dietas contendo OEL tiveram maior consumo de N quando comparadas à M25 (P = 0,03). A excreção de N nas fezes e na urina não diferiu entre os tratamentos experimentais.

A quantidade de N absorvido (g/dia e g/kg de N consumido) não foram afetadas pelo aumento nos teores de OEL. O tratamento M25 teve menor absorção de N quando comparado ao tratamento L0 (P < 0,01). Entretanto, o N absorvido em g/kg de N consumido não diferiu nessa mesma comparação. A absorção de N (g/dia) foi maior para as dietas com OEL em comparação ao tratamento M25 (P = 0,02), mas não houve diferença para o N absorvido em g/kg de N consumido.

O N retido (g/dia, g/kg de N ingerido e g/kg de N absorvido) não diferiu entre os tratamentos.

Tabela 5. Balanço de nitrogênio em cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica.

Itens[4]	**Tratamentos**[1]					**EPM**[2]	***P-valor***[3]			
	L0	**L100**	**L500**	**L1000**	**M25**		**L**	**Q**	**M25 *vs.* L0**	**OEL *vs.* M25**
N consumido (g/dia)	21,7	24,8	22,1	21,1	19,1	1,35	0,20	0,09	0,18	0,03
N fecal (g/dia)	2,3	2,4	2,3	2,3	2,2	0,08	0,65	0,75	0,35	0,23
N urina (g/dia)	10,8	12,8	11,2	10,9	10,8	0,88	0,51	0,10	0,94	0,43
N absorvido										
g/dia	20,9	21,1	19,8	18,2	16,9	1,01	0,47	0,64	<0,01	0,02
g/kg de N consumido	889,3	902,1	892,3	877,9	876,1	6,61	0,19	0,19	0,17	0,07
N retido										
g/dia	8,6	8,0	8,6	7,5	6,0	1,12	0,42	0,66	0,14	0,12
g/kg de N consumido	377,4	354,7	375,1	336,2	276,0	42,95	0,43	0,65	0,12	0,10
g/kg de N absorvido	421,7	391,6	418,7	378,9	309,3	47,46	0,44	0,60	0,10	0,13

[1]L0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); L100: adição de 100 mg de OEL/kg de MS; L500: adição de 500 mg de OEL/kg de MS; L1000: adição de 1000 mg de OEL/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs.* L0: dieta controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo) *vs.* dieta com 25 mg de monensina /kg de MS (controle positivo); OEL *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de laranja *vs.* dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo). [4]N: nitrogênio.

3.3.3 Características de fermentação ruminal

Os resultados das características de fermentação ruminal são apresentados na Tabela 6. O aumento nos teores de OEL na dieta não afetou a concentração total dos AGCC, nem a proporção molar de acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, isovalerato e a relação acetato:propionato. Quando o tratamento M25 foi comparado ao tratamento L0, houve menor (P = 0,05) concentração total de AGCC para M25. Nessa mesma comparação, a proporção molar dos AGCC e a relação acetato:propionato não foram afetadas. No contraste entre as dietas com OEL e M25, não houve diferença na concentração total dos AGCC, a proporção molar dos AGCC e a relação acetato:propionato.

O pH ruminal, a área abaixo do pH 5,5 e a área total abaixo da curva não foram afetados pelos tratamentos experimentais. A concentração de N-NH_3 não diferiu entre os tratamentos.

Tabela 6. Parâmetros de fermentação ruminal de cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica.

Itens[4]	Tratamentos[1]					EPM[2]	*P-valor*[3]					
	L0	L100	L500	L1000	M25		L	Q	M25 *vs.* L0	OEL *vs.* M25	H	T × H
AGCC total (mM)	60,6	50,1	56,1	50,1	50,4	1,07	0,85	0,06	0,05	0,66	<0,0001	0,77
AGCC (mM/100 mM)												
Acetato	55,9	55,2	56,3	59,3	54,9	1,80	0,73	0,69	0,74	0,36	<0,0001	0,26
Propionato	29,6	28,4	27,9	25,4	30,1	2,52	0,54	0,92	0,88	0,35	<0,0001	0,33
Butirato	11,0	11,8	11,8	12,3	11,1	1,26	0,62	0,81	0,96	0,57	0,04	0,98
Isobutirato	0,64	0,73	0,68	0,73	0,74	0,047	0,93	0,20	0,15	0,66	<0,0001	0,28
Valerato	1,81	2,28	2,15	1,54	2,14	0,304	0,52	0,41	0,44	0,67	0,19	0,96
Isovalerato	1,19	1,37	1,42	1,49	1,36	0,131	0,31	0,68	0,36	0,68	<0,0001	0,35
A:P	2,23	2,45	2,73	2,80	2,26	0,271	0,16	0,94	0,93	0,22	<0,0001	0,12
pH	5,81	5,89	5,80	5,93	5,92	0,068	0,56	0,31	0,27	0,58	<0,0001	0,97
pH área < 5,5 (uni. pH × h/d)	49,6	49,9	51,3	44,8	34,3	9,78	0,47	0,94	0,28	0,22	-	-
pH área total (uni. pH × h/d)	136,9	138,5	136,9	140,4	139,9	1,66	0,58	0,41	0,22	0,52	-	-
$N\text{-}NH_3$ (mg/dL)	18,9	18,1	19,7	18,9	17,8	0,89	0,24	0,21	0,33	0,24	<0,0001	0,99

[1]L0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); L100: adição de 100 mg de OEL/kg de MS; L500: adição de 500 mg de OEL/kg de MS; L1000: adição de 1000 mg de OEL/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs.* L0: dieta controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo) *vs.* dieta com 25 mg de monensina /kg de MS (controle positivo); OEL *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de laranja *vs.* dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo); H: efeito de hora; T × H: efeito entre tratamento e hora [4] AGCC: ácido graxo de cadeia curta; A:P: relação acetato:propionato; $N\text{-}NH_3$: nitrogênio amoniacal.

3.4 Discussão

3.4.1 Consumo de nutrientes e digestibilidade

A semelhança no CMS quando os teores de OEL aumentaram na dieta é coerente com a ausência de efeito do OEL sobre a digestibilidade da MS e as características de fermentação ruminal (Tabelas 4 e 6).

Os cordeiros que receberem OEL tiveram maior CMS quando comparados aos cordeiros que receberam M25. Esse resultado pode ser explicado pela dose de monensina utilizada no presente estudo. Polizel et al. (2021) relataram que a dose de 24 mg/kg MS de monensina sódica reduziu o CMS de cordeiros recebendo dietas de alta energia, o que corrobora com os resultados do presente estudo utilizando a dose de 25 mg/kg MS de monensina sódica no mesmo padrão de dieta. Os autores do artigo citado acima indicam que o maior CMS e os melhores resultados de modulação da fermentação ruminal e desempenho foram observados quando foi utilizada a inclusão de 8 mg de monensina sódica/kg de MS.

O aumento nos teores de OEL na dieta diminuiu a digestibilidade do CNF. Esse resultado pode ser justificado pela presença majoritária de D-limoneno no OEL. É relatado que o D-limoneno possui efeito sobre bactérias Gram-negativas (Gupta et al., 2021), as quais são majoritariamente responsáveis pela digestão de CNF no rúmen. Sendo assim, pode-se dizer que a maior inclusão de OEL na dieta aumentou proporcionalmente o efeito antimicrobiano do óleo essencial e contribuiu na redução da digestibilidade aparente do CNF. Houve menor digestibilidade do CNF para M25 em relação a L0. Este efeito não era esperado, uma vez que doses semelhantes de monensina sódica associadas a dietas à base de concentrado não foram associadas a redução na digestibilidade do CNF (Gonzalez-Momita et al., 2009; Muntifering et al., 1981). Entretanto, já foi descrito que altas doses de monensina sódica podem reduzir a digestibilidade do amido ruminal quando associadas a dietas com alto teor de grãos (Muntifering et al., 1981; Spears, 1990). Esse efeito pode ter ocorrido no presente estudo e contribuído para a menor digestibilidade da CNF quando os cordeiros receberam a dose de 25 mg/kg MS de monensina sódica. Por sua vez, a maior digestibilidade do CNF nas dietas com OEL em relação à dieta M25, é coerente com o fato de que a dose de 25 mg/kg MS de monensina sódica atuou negativamente

sobre a digestibilidade do CNF no presente estudo, o que é corroborado pela diferença observada entre os tratamentos M25 e L0 para essa mesma variável.

A menor digestibilidade aparente da FDN quando o tratamento M25 foi comparado ao L0 concorda com o que é reportado na literatura quando a monensina é incluída na dieta. A monensina possui efeito antimicrobiano seletivo, agindo sobre bactérias Gram-positivas, as quais são responsáveis pela degradação da fração fibrosa da dieta (Russell; Strobel, 1988).

3.4.2 Balanço de nitrogênio

O maior consumo de N quando os cordeiros receberam dietas com OEL em comparação aos que receberam a dieta M25 pode ser explicado pelo maior CMS quando as dietas continham OEL (Tabela 4). Complementarmente, a diferença no consumo de N explica a maior absorção de N (g/dia) nas dietas com OEL. Por outro lado, a menor quantidade de N absorvido (g/dia) na comparação entre as dietas M25 e L0 é justificado pelo menor consumo de N em M25. Mesmo que sem significância (P = 0,18) o consumo de N foi 13% menor para M25 em relação à L0.

A ausência de efeito significativo sobre os parâmetros relacionados às perdas nitrogenadas (N nas fezes e N na urina) sustentam os resultados observados para a retenção de N. É destacado que a retenção de N em ruminantes está diretamente associada à quantidade de N excretado (Castillo et al., 2001).

3.4.3 Características de fermentação ruminal

A partir dos resultados obtidos no presente estudo é possível dizer que a inclusão de até 1000 mg de OEL/kg de MS não reflete em efeito adicional positivo, nem compromete negativamente a fermentação ruminal. A ausência de efeitos sobre a fermentação ruminal pode ser justificada pela composição do OEL, pois o D-limoneno, composto majoritário, é caracterizado como um monoterpeno hidrocarbonado. Monoterpenos hidrocarbonados são destacados por possuírem menor taxa de inibição aos microrganismos do rúmen em relação aos monoterpenos compostos oxigenados (Dorman et al., 2000). Nesse cenário, é recomendado estudos

com teores maiores de OEL a fim de encontrar o teor ideal capaz de modular a fermentação ruminal de cordeiros recebendo dietas ricas em concentrado.

O pH ruminal não foi afetado pelos tratamentos do presente estudo. A ausência de efeito significativo sobre a área abaixo do pH 5,5 e a área total abaixo da curva de pH indicam que os tratamentos experimentais agiram na mesma magnitude sobre a estabilidade do pH ruminal. Diante disso, é possível dizer que o OEL incluído na dieta até a dose de 1000 mg/kg de MS pode exercer efeitos como a monensina sobre o pH ruminal. Esse resultado merece destaque, uma vez que as dietas com OEL tiveram maior CMS que a dieta M25 (Tabela 4), o que poderia refletir em menor pH ruminal nos cordeiros que receberam dietas com OEL.

O aumento nos teores de OEL não afetou a concentração de N-NH_3 ruminal. Esse resultado concorda com o que é reportado por Samii et al. (2016), os quais não observaram alteração da concentração N-NH_3 quando utilizaram diferentes teores de D-limoneno na dieta de bovinos. Benchaar et al. (2008) e Wallace (2004) destacaram que os efeitos dos óleos essenciais sobre a concentração de N-NH_3 ruminal estão diretamente associados ao tipo de óleo essencial, o composto majoritário, a dose e o perfil da dieta utilizada. Dessa forma, o OEL por ser rico em D-limoneno e associado a uma dieta rica em concentrado pode ter efeito menos pronunciado em modular a concentração de N-NH_3 ruminal.

3.5 Conclusão

O aumento nos teores de OEL não resultou em efeito sobre a concentração total de AGCC e a proporção molar dos AGCC. Porém, a digestibilidade aparente do CNF reduziu com o aumento dos teores de OEL, indicando que a inclusão de altos teores de OEL em dietas ricas em CNF deve ser realizada com cautela. Apesar disso, experimentos avaliando os efeitos do OEL no desempenho animal são necessários para uma melhor recomendação a este respeito. Nenhum dos teores se mostrou positivamente efetivo sobre os parâmetros estudados. Tendo em vista a similaridade dos efeitos do OEL comparado à monensina em modular a fermentação ruminal é possível indicar grande potencial do OEL em substituir a monensina em dietas ricas em concentrado para cordeiros. Vale destacar, que a inclusão de OEL refletiu em aumento no CMS em relação à dieta com monensina, surpreendentemente, o maior CMS não refletiu em decréscimo no pH ruminal, indicando que o OEL pode ser

eficiente na manutenção do pH ruminal quando comparado a monensina na dose de 25 mg/kg de MS. Recomenda-se a condução de mais estudos para investigar teores maiores de OEL sobre o metabolismo ruminal, bem como estudos que associem o OEL com outros óleos essenciais ou até mesmo com ionóforos.

REFERÊNCIAS

Abadi, A.T.B., Rizvanov, A.A., Haertlé, T., Blatt, N.L., 2019. World Health Organization Report: Current Crisis of Antibiotic Resistance. Bionanoscience 9, 778–788. https://doi.org/10.1007/s12668-019-00658-4

AOAC, 1997. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. Gaithersburg.

AOAC, 1990. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis, 15th ed. Arlington.

Ben, Y., Fu, C., Hu, M., Liu, L., Wong, M.H., Zheng, C., 2019. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. Environ. Res. 169, 483–493. https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.040

Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 209–228. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014

Cannas, A., Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Pell, A.N., Van Soest, P.J., 2004. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. J. Anim. Sci. 82, 149–169.

Castillo, A.R., Kebreab, E., Beever, D.E., Barbi, J.H., Sutton, J.D., Kirby, H.C., France, J., 2001. The effect of energy supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage diets. J. Anim. Sci. 79, 240–246. https://doi.org/10.2527/2001.791240x

Chaney, A.L., Marbach, E.P., 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clin. Chem. 8, 130–2.

Ciriminna, R., Lomeli Rodriguez, M., Demma Carà, P., Lopez Sanchez, J.A., Pagliaro, M., 2014. Limonene: A versatile chemical of the bioeconomy. Chem. Commun. 50, 15288–15296. https://doi.org/10.1039/c4cc06147k

Crane, A., Nelson, W.O., Brown, R.E., 1957. Effects of D-Limonene and α-D-Pinene on in Vitro Carbohydrate Dissimilation and Methane Formation by Rumen Bacteria. J. Dairy Sci. 40, 1317–1323.

Dorman, H.J., Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88, 308–316.

Duffield, T.F., Merrill, J.K., Bagg, R.N., 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. J. Anim. Sci. 90, 4583–4592. https://doi.org/10.2527/jas.2011-5018

Goering, H.K., Van Soest, P.J., 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications), Agriculture Handbook nº 379. US Department of Agriculture, Washington, DC.

González-Mas, M.C., Rambla, J.L., López-Gresa, M.P., Amparo Blázquez, M., Granell, A., 2019. Volatile compounds in citrus essential oils: A comprehensive review. Front. Plant Sci. 10, 1–18. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00012

Gonzalez-Momita, M.L., Kawas, J.R., García-Castillo, R., Gonzalez-Morteo, C., Aguirre-Ortega, J., Hernandez-Vidal, G., Fimbres-Durazo, H., Picón-Rubio, F.J., Lu, C.D., 2009. Nutrient intake, digestibility, mastication and ruminal fermentation of Pelibuey lambs fed finishing diets with ionophore (monensin or lasalocid) and sodium malate. Small Rumin. Res. 83, 1–6. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.11.008

Goodrich, R.D., Garrett, J.. E., Gast, D.R., Kirick, M.A., Larson, D.A., Meiske, J.. C., 1984. Influence of Monensin on the Performance of Cattle. J. Anim. Sci. 58, 1484–1498.

Gupta, A., Jeyakumar, E., Lawrence, R., 2021. Journey of limonene as an antimicrobial agent. J. Pure Appl. Microbiol. 15, 1094–1110. https://doi.org/10.22207/JPAM.15.3.01

He, Y., Yuan, Q., Mathieu, J., Stadler, L., Senehi, N., Sun, R., Alvarez, P.J.J., 2020. Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment. npj Clean Water 3, 1–11. https://doi.org/10.1038/s41545-020-0051-0

Kotsampasi, B., Tsiplakou, E., Christodoulou, C., Mavrommatis, A., Mitsiopoulou, C., Karaiskou, C., Sossidou, E., Fragioudakis, N., Kapsomenos, I., Bampidis, V.A., Christodoulou, V., Zervas, G., 2018. Effects of dietary orange peel essential oil supplementation on milk yield and composition, and blood and milk antioxidant status of dairy ewes. Anim. Feed Sci. Technol. 245, 20–31. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.08.007

Maulfair, D.D., McIntyre, K.K., Heinrichs, A.J., 2013. Subacute ruminal acidosis and total mixed ration preference in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96, 6610–6620. https://doi.org/10.3168/jds.2013-6771

Muntifering, R.B., Theurer, B., Noon, T.H., 1981. Effects of monensin on site and extent of whole corn digestion and bacterial protein synthesis in beef steers. J. Anim. Sci. 53, 1565–1573. https://doi.org/10.2527/jas1982.5361565x.

Polizel, D.M., Martins, A.S., Miszura, A.A., Ferraz Júnior, M.V. de C., Bertoloni, A.V., Oliveira, G.B., Barroso, J.P.R., Ferreira, E.M., Pires, A.V., 2021. Low doses of monensin for lambs fed diets containing high level of ground flint corn. Sci. Agric. 78, 1–8. https://doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0263

Rofiq, M.N., Negara, W., Martono, S., Gopar, R.A., Boga, M., 2021. Potential effect of some essential oils on rumen methane reduction and digestibility by in Vitro incubation technique. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 905. https://doi.org/10.1088/1755-1315/905/1/012138

Russel, J.B., Strobel, H.J., 1989. Effect of Ionophores on ruminal fermentation. Appl. Environ. Microbiol. 55, 1–6.

Russell, J.B., Strobel, H.J., 1988. Effects of additives on in vitro ruminal fermentation: a comparison of monensin and bacitracin, another gram-positive antibiotic. J. Anim. Sci. 66, 552–558. https://doi.org/10.2527/jas1988.662552x

Sallam, S.M.A., Abdelgaleil, S.A.M., 2010. Efecto de diferentes niveles de aceite esencial de cítrico y su componente activo en la fermentación microbiana ruminal y la producción in vitro de metano. Rev. Cuba. Cienc. Agric. 44, 373–378.

Samii, S.S., Wallace, N., Nagaraja, T.G., Engstrom, M.A., Miesner, M.D., Armendariz, C.K., Titgemeyer, E.C., 2016. Effects of limonene on ruminal fusobacterium necrophorum concentrations, fermentation, and lysine degradation in cattle. J. Anim. Sci. 94, 3420–3430. https://doi.org/10.2527/jas.2016-0455

Spears, J.W., 1990. Ionophores and Nutrient Digestion and Absorption in Ruminants. J. Nutr. 120, 632–638.

Torres, R.N.S., Moura, D.C., Ghedini, C.P., Ezequiel, J.M.B., Almeida, M.T.C., 2020. Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and performance of sheep. Small Rumin. Res. 189, 106148. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106148

Torres, R.N.S., Paschoaloto, J.R., Ezequiel, J.M.B., da Silva, D.A.V., Almeida, M.T.C., 2021. Meta-analysis of the effects of essential oil as an alternative to monensin in diets for beef cattle. Vet. J. 272, 105659. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105659

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2

Wallace, R.. j., 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proc. Nutr. Soc. 63, 621–629. https://doi.org/10.1079/PNS2004393

4 ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA (*Citrus sinensis*) EM DIETAS PARA CORDEIROS EM TERMINAÇÃO: DESEMPENHO, COMPORTAMENTO INGESTIVO, CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA, MORFOLOGIA DO EPITÉLIO RUMINAL E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE

Resumo

O óleo essencial de laranja (OEL) é rico em D-limoneno e por esse motivo tem ganhado grande atenção da comunidade cientifica. Na alimentação de ruminantes os resultados de pesquisa utilizando esse produto são escassos. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes teores de OEL como aditivo sobre o desempenho, comportamento ingestivo, características de carcaça, morfologia do epitélio ruminal e perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros em terminação. Foram utilizados 40 cordeiros mestiços Dorper x Santa Inês, não castrados, com peso médio inicial de 21,76 ± 4,65 kg (média ± desvio padrão) e 86 ± 15 dias de idade (média ± desvio padrão). O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados (5 tratamentos e 8 blocos). Os tratamentos experimentais foram: **L0** - controle negativo (dieta padrão sem inclusão de aditivo); **L100** - inclusão de 100 mg de OEL/kg de MS; **L500** – inclusão de 500 mg de OEL/kg de MS; **L1000** – inclusão de 1000 mg de OEL/kg de MS; **M25** - controle positivo (dieta contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS). Todas as dietas experimentais continham 90% de concentrado e 10% de forragem (feno de *Coastcross*). A inclusão de OEL na dieta aumentou linearmente ($P < 0,05$) o consumo de matéria seca (CMS), ganho de peso médio diário (GMD), eficiência alimentar (EA), peso corporal ao abate (PCA), peso de carcaça quente (PCQ), peso de carcaça fria (PCF), espessura de gordura subcutânea (EGS), área de olho de lombo (AOL) e espessura de parede corporal (EPC). As dietas contendo OEL tiveram maior ($P < 0,05$) CMS, GMD, EA, PCA, PCQ, PCF, EGS, AOL e EPC quando comparadas ao tratamento M25. Por sua vez, M25 teve menor ($P < 0,05$) CMS, GMD e PCA que o tratamento L0. Nessa mesma comparação a EA, o PCQ, PCF, EGS, AOL e EPC não diferiram. Os teores de OEL não afetaram a contagem de oocistos/g de fezes. Contudo, dietas com OEL tiveram maior ($P = 0,02$) contagem de oocistos em relação à M25. Por sua vez, M25 teve menor ($P < 0,01$) contagem de oocistos que L0. O tempo de alimentação, ruminação, mastigação, ócio e ingestão de água não diferiram entre os tratamentos. As taxas de alimentação, ruminação e mastigação (min/g de MS e min/g de FDN) foram superiores para M25 ($P < 0,05$) em relação às dietas com OEL e L0. Não houve diferença entre os tratamentos sobre a morfologia do epitélio ruminal. A inclusão de OEL aumentou o somatório de ácidos graxos monoinsaturados, melhorou o índice de promoção à saúde humana e reduziu o índice de trombogenicidade em relação à M25 ($P < 0,05$). A utilização de OEL conferiu maior índice de dessaturação de ácidos graxos com 16 e 18 carbonos em comparação à M25 ($P < 0,05$). As dietas com OEL tiveram maior ($P = 0,03$) relação n-6/n-3 quando comparadas ao tratamento M25. O OEL pode ser utilizado como aditivo alimentar em substituição a monensina em dietas com alto teor de concentrado para cordeiros em terminação, tendo em vista que aumentou o GMD, a EA e às características de carcaça. Zootecnicamente o teor de 1000 mg de OEL/kg de MS é o mais promissor. Quando comparado com à monensina na dose de 25 mg/kg de MS, o OEL apresentou

resultados promissores no que se refere ao desempenho e às características de carcaça, embora o OEL tenha sido menos eficiente no controle da coccidiose.

Palavras-chave: Aditivo, Bioinsumos, Epitélio ruminal, Monensina, Perfil de ácidos graxos, Ovinos.

Abstract

Orange essential oil (OEO) is rich in D-limonene and for this reason has gained great attention from the scientific community. In ruminant feed, research results using this product are scarce. The objective of this study was to evaluate the effect of different levels of OEO as an additive on performance, ingestive behavior, carcass characteristics, morphology of the ruminal epithelium, and fatty acid profile of the meat of feedlot lambs. Forty Dorper x Santa Inês crossbred, uncastrated lambs with an average initial weight of 21.76 ± 4.65 kg (mean ± standard deviation) and 86 ± 15 days of age (mean ± standard deviation) were used. The experimental design was in randomized complete blocks (5 treatments and 8 blocks). The experimental treatments were: **L0** - negative control (diet without additive inclusion); **L100** - inclusion of 100 mg OEO/kg DM; **L500** - 500 mg OEO /kg DM; **L1000** - 1000 mg OEO/kg DM; **M25** - positive control (25 mg sodium monensin /kg DM). All diets contained 90% concentrate and 10% roughage (Coastcross hay). The inclusion of OEO in the diet linearly increased ($P < 0.05$) dry matter intake (DMI), average daily weight gain (ADG), feed efficiency (FE), body weight at slaughter (BWS), hot carcass weight (HCW), cold carcass weight (CCW), subcutaneous fat thickness (SFT), loin eye area (LEA) and body wall thickness (BWT). The diets containing OEO had higher ($P < 0.05$) DMI, ADG, FE, BWS, HCW, CCW, SFT, LEA, and BWT when compared to the M25 treatment. The M25 had lower ($P < 0.05$) DMI, ADG, and BWS than the L0 treatment. In this same comparison the FE, HCW, CCW, SFT, LEA, and BWT did not differ. The OEO contents did not affect the oocyst count/g of feces. However, diets with OEO had higher ($P = 0.02$) oocyst count compared to M25. The M25 had a lower ($P < 0.01$) oocyst count than L0. Feeding, rumination, chewing, idling, and water intake times did not differ between treatments. Feeding, rumination, and chewing rates (min/g DM and min/g NDF) were higher for M25 ($P < 0.05$) relative to OEO and L0 diets. There was no difference between treatments on rumen epithelium morphology. The inclusion of OEO increased the sum of monounsaturated fatty acids, improved the human health promotion index, and reduced the thrombogenicity index relative to M25 ($P < 0.05$). The use of OEO conferred a higher desaturation index of 16- and 18-carbon fatty acids compared to M25 ($P < 0.05$). The diets with OEO had a higher ($P = 0.03$) n-6/n-3 ratio when compared to the M25 treatment. The OEO can be used as a feed additive to replace monensin in high-concentrate diets for feedlot lambs as it increased ADG, FE, and carcass characteristics. Zootechnically the 1000 mg OEO/kg DM content is the most promising. When compared to sodium monensin at 25 mg/kg DM, OEO showed promising results regarding performance and carcass characteristics, although OEO was less efficient in controlling coccidiosis.

Keywords: Additive, Bio inputs, Ruminal epithelium, Monensin, Fatty acid profile, Sheep.

4.1 Introdução

O óleo essencial de laranja (OEL) é composto majoritariamente por D-limoneno (González-Mas et al., 2019). Na indústria o OEL como fonte de D-limoneno é caracterizado como um produto químico renovável, o qual possui inúmeras e crescentes aplicações. Na área da saúde humana, o OEL é destacado por seus efeitos antioxidante, anti-inflamatório, anticancerígeno, antibacteriano, imunomodulador e antiestresse (Anandakumar et al., 2021; González-Mas et al., 2019). O OEL é reconhecido como uma substância segura (detendo classificação GRAS da Food and Drug Administration dos EUA) e incluído na Farmacopeia Europeia. Sendo assim, por possuir baixa toxicidade, é seguro para o consumo humano.

Na alimentação de ruminantes o composto majoritário encontrado no OEL (D-limoneno) é destacado por aumentar a concentração de propionato, reduzir a produção de metano e melhorar a estabilidade do pH ruminal (Crane et al., 1957; Samii et al., 2016). Na literatura, são escassos os estudos *in vivo* utilizando o OEL como aditivo alimentar. Entretanto, a avaliação de ovelhas leiteiras recebendo teores crescentes de OEL (133, 266 e 399 mg/kg de MS de concentrado) evidenciou que o teor de 266 mg proporcionou aumento na produção de leite, enquanto o teor de 399 mg reduziu o consumo de matéria seca (CMS), melhorou a eficiência alimentar (EA) e a atividade antioxidante no sangue e no leite (Kotsampasi et al., 2018).

Existem fortes evidências de que o OEL possa exercer efeitos positivos sobre a fermentação ruminal e o desempenho animal. No entanto, diversos fatores ainda precisam ser investigados para que o OEL possa ser utilizado como uma ferramenta nutricional passível de substituir os aditivos ionóforos em larga escala (Samii et al., 2016). A hipótese desse trabalho foi que o OEL, similarmente a monensina sódica irá melhorar o desempenho, as características de carcaça e o perfil de ácidos graxos da carne, quando associado a uma dieta contendo 90% de concentrado para cordeiros em terminação.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de teores crescentes de OEL em dietas ricas em concentrado para cordeiros, sobre o CMS, ganho de peso, eficiência alimentar, comportamento ingestivo, características de carcaça, morfologia

do epitélio ruminal e o perfil de ácidos graxos da carne. A partir dos resultados será possível definir o melhor teor de OEL, como também comparar os efeitos do OEL com a monensina sódica.

4.2 Materiais e métodos

4.2.1 Local, animais e instalações experimentais

O experimento foi conduzido nas instalações para confinamento do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba – SP (22° 42′ 24″ S e 47° 37′ 53″ O), Brasil. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/ESALQ), protocolo n.º 5160100220.

Foram utilizados 40 cordeiros não castrados, mestiços (Dorper x Santa Inês), com peso médio inicial de 21,8 ± 5,76 kg (média ± desvio padrão) e idade média de 86 ± 15 dias (média ± desvio padrão). Todos os cordeiros utilizados nesse ensaio pertenciam ao rebanho do SIPOC e receberam durante a fase lactente até o desmame dieta com 100% de concentrado contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS em sistema de *creep feeding*. Após o desmame, os animais foram confinados em galpão coberto em baias individuais (*Tie Stall*). As baias eram providas de bebedouro e cocho para fornecimento das dietas experimentais e água potável. Todos os animais no início do experimento foram desverminados com 1,0% moxidectin (Cydectin, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, São Paulo, Brasil) na dosagem de 1 mL/50 kg de peso corporal e receberam aplicação de suplemento vitamínico ADE (Vallée Injetável ADE, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil) antes do início do experimento.

4.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo experimental

O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados com 8 blocos e 5 tratamentos. Os blocos foram definidos conforme o peso e idade dos animais no início do experimento. O período experimental foi de 84 dias, divididos em três subperíodos de 28 dias.

As dietas experimentais foram isoenergéticas e isonitrogenadas, contendo 90% de concentrado e 10% de volumoso (feno de *Coastcross*). A formulação foi realizada utilizando o "*Small Ruminant Nutrition System*" (SRNS; Cannas et al., 2004; Tabela 7). Os tratamentos experimentais foram: **L0** - controle negativo (dieta padrão sem inclusão de aditivo); **L100** - inclusão de 100 mg de OEL/kg de MS; **L500** - inclusão de 500 mg de OEL/kg de MS; **L1000** - inclusão de 1000 mg de OEL/kg de MS; **M25** - controle positivo (dieta contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS; Rumensin 100, Elanco do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil).

Tabela 7. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais (% da MS).

Item	Tratamentos[1]				
	L0	**L100**	**L500**	**L1000**	**M25**
Ingredientes					
Feno de *Coastcross*	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho moído	72,0	71,9	71,9	71,9	71,9
Farelo de Soja	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0
Ureia	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Cloreto de amônio	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Mistura mineral[2]	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
OEL[3], mg/kg de MS	0	100	500	1000	-
Monensina[4], mg/kg de MS	-	-	-	-	25
Composição química[5]					
Matéria seca	84,2 ± 0,49	84,1 ± 0,46	84,2 ± 0,90	84,2 ± 0,61	84,0 ± 0,44
Matéria orgânica	94,5 ± 0,57	94,6 ± 0,19	94,5 ± 0,18	94,6 ± 0,17	94,3 ± 0,21
Proteína bruta	16,1 ± 0,60	16,2 ± 0,33	16,3 ± 0,33	16,3 ± 0,33	16,6 ± 0,33
Fibra em detergente neutro	16,0 ± 0,96	15,9 ± 0,96	15,9 ± 0,93	15,9 ± 0,95	16,1 ± 1,14
Fibra em detergente ácido	5,9 ± 0,33	6,2 ± 0,13	6,2 ± 0,14	6,2 ± 0,13	6,6 ± 0,43
Extrato etéreo	3,5 ± 0,61	3,5 ± 0,64	3,5 ± 0,63	3,5 ± 0,65	3,4 ± 0,74
EM[6], Mcal/kg de MS	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9

[1] **L0** (controle negativo) – dieta base, sem adição de aditivo; **L100** – adição de 100 mg de OEL/kg de MS; **L500** – adição de 500 mg de OEL/kg de MS; **L1000** – adição de 1000 mg de OEL/kg de MS; M**25** (controle positivo) – adição de 25 mg de monensina sódica/kg de MS. [2] Ca: 150 g/kg; P: 40 g/kg; Na: 118 g/kg; Mg: 8 g/kg; S: 19 g/kg; Cu: 300 mg/kg; Mn: 1.250 mg/kg; Zn: 6.480 mg/kg; I: 80 mg/kg; Co: 40 mg/kg; Se: 27 mg/kg; F: 400 mg/kg. [3]Óleo essencial de laranja: 95,1% de D-limoneno, 3,8% de mirceno e 1,1% de α-pineno (CP Kelco Brasil S/A – Matão, São Paulo, Brasil). [4] Rumensin 100 (monensina sódica, Elanco do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil). [5]Considera três amostras por tratamento (n = 3). [6]Estimada usando o *Small Ruminant Nutrition System* (Cannas et al., 2004).

Amostras das dietas e dos ingredientes foram colhidas a cada batida de ração. A composição química dos ingredientes é descrita na Tabela 8.

Tabela 8. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais (% da MS).

Item[1]	**Ingredientes**		
	Feno de *Coastcross*	**Milho moído**	**Farelo de soja**
n	3	3	3
Matéria seca	77,4 ± 2,91	88,7 ± 0,20	87,9 ± 0,30
Matéria orgânica	90,9 ± 0,64	97,1 ± 0,38	93,4 ± 0,10
Proteína bruta	7,0 ± 0,53	9,4 ± 0,10	45,8 ± 0,65
Fibra em detergente neutro	75,3 ± 0,36	11,7 ± 0,25	11,4 ± 0,18
Fibra em detergente ácido	37,8 ± 0,36	2,57 ± 0,38	7,0 ± 0,30
Extrato etéreo	1,9 ± 0,06	3,53 ± 0,30	2,3 ± 0,21

[1]n: número de amostras.

O feno de *Coastcross* e o milho foram moídos utilizando triturador (Nogueira DPM – 4, Itapira, São Paulo, Brasil) com peneira com crivos de 10 mm. Todos os ingredientes das dietas L0 e M25 foram misturados utilizando misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato, Limeira, São Paulo, Brasil). Para confecção das dietas L100, L500 e L1000 foi preparada uma pré-mistura (contendo apenas a fração concentrada da dieta) utilizando o mesmo misturador horizontal. O OEL foi pesado diariamente em balança analítica com acurácia de 0,0001 g (Sartorius BA11OS, Gottingen, Niedersachsen, Alemanha) e misturado manualmente à pré-mistura, sendo posteriormente o feno adicionado e homogeneizado à pré-mistura com OEL. As dietas foram pesadas diariamente em balança eletrônica com precisão de 1g (Marte, LC 100, São Paulo, São Paulo, Brasil) e imediatamente ofertadas (às 7 horas da manhã) na forma de ração total.

Com objetivo de manter as sobras em torno de 10% da quantidade ofertada do dia anterior, a quantidade ofertada foi diariamente definida com base na leitura de cocho realizada, momentos antes do início da pesagem das rações. As sobras foram retiradas, pesadas e amostradas (10%) somente ao final de cada período experimental. Posteriormente as amostras foram compostas por tratamento e armazenadas a -18 °C até o momento das análises bromatológicas. O CMS foi determinado pela diferença entre a quantidade de ração ofertada e a respectiva sobra, ambas com base na concentração de MS (dieta e sobra). O resultado (consumido total

por período) foi dividido por 28, obtendo-se o CMS diário para cada animal em cada tratamento.

Para o cálculo do ganho médio diário de peso corporal (GMD), os cordeiros foram pesados nos dias 0, 28, 56 e 84 do período experimental após jejum de sólidos de 16 horas em balança eletrônica com precisão de 0,100 kg (KM3-N; Coimma, Dracena, São Paulo, Brasil). A partir dos dados de CMS e GMD, foi calculado a eficiência alimentar (EA; EA = g de GMD/g de CMS).

Para o melhor controle sanitário e reduzir a incidência de fatores que comprometessem o desempenho, a ocorrência de coccidiose foi avaliada através do exame de fezes para contagem de oocistos/g de fezes (OOPG). Essa avaliação foi realizada ao final de cada período experimental utilizando metodologia descrita por Ueno e Gonçalves (1988).

4.2.3 Comportamento ingestivo

Nos dias 26, 52 e 78 do experimento foi realizada a avaliação do comportamento ingestivo de cada animal, durante 24 horas, com observações realizadas a cada 5 minutos. Dois observadores devidamente treinados observaram 20 animais cada um em turnos de avaliação de 3 horas. Foram determinados os tempos gastos com ingestão de alimento, ruminação, mastigação, ócio e ingestão de água em min/dia. O número de refeições foi contabilizado pelo número de sequências de atividades observadas na planilha para a atividade de ingestão de alimento (Filho et al., 2016).

O tempo despendido em cada atividade (expresso em min/dia) foi calculado por meio da multiplicação do número de observações por 5. O tempo total de mastigação foi considerado como a soma dos tempos de ingestão e ruminação (Weidner; Grant, 1994). Os tempos de ingestão, ruminação e mastigação foram expressos em min/g de MS e min/g de FDN ingerido. As taxas de ingestão, ruminação e mastigação foram calculadas utilizado o teor de MS e FDN das dietas e sobras do dia do comportamento. As sobras remontadas de cada período experimental foram colhidas e armazenadas antes do início de cada observação e posteriormente as dietas foram ofertadas. Ao final da observação do comportamento as sobras foram colhidas, pesadas, amostradas por animal e compostas por tratamento. Após a

remoção das sobras do dia do comportamento, as sobras coletadas no início da avaliação foram devolvidas ao cocho e em seguida foi ofertada a dieta.

4.2.4 Abate dos animais e características de carcaça

Ao final do período de confinamento, todos os animais foram abatidos. Antes do abate, os animais foram submetidos a jejum de sólidos de 16 horas. Após o período de jejum, os animais foram pesados para obtenção do peso corporal ao abate (PCA) e abatidos. O abate foi realizado por atordoamento por concussão cerebral com pistola de dardo cativo, seguido de sangria por secção das veias jugulares, esfola, evisceração e remoção da cabeça e dos membros. No abate foram seguidas as orientações do Serviço de Inspeção Federal de abate humanitário conforme a Instrução Normativa n.º 3 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Imediatamente após o abate as carcaças foram pesadas para obtenção do peso de carcaça quente (PCQ), foi utilizado uma balança com 0,100 kg de precisão (Filizola, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil). Posteriormente as carcaças foram refrigeradas em câmara de refrigeração a 4 ºC por 24 horas. Após esse período, as carcaças foram novamente pesadas para à obtenção do peso de carcaça fria (PCF). O rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça fria (RCF) e a perda por resfriamento (PR) foram calculados pelas fórmulas: RCQ = (PCQ / PCA) × 100; RCF = (PCF / PCA) × 100; PR = [(PCQ – PCF) / PCQ] × 100.

Após registrado o PCF, as carcaças foram penduradas pelo tendão de Aquiles e o músculo *Longissimus lumborum* foi seccionado transversalmente entre a 12ª e 13ª costelas. A espessura de gordura subcutânea (EGS) foi determinada dos dois lados da carcaça utilizando paquímetro digital graduado em mm (Asimeto, Mooresville, Carolina do Norte, EUA) de acordo com Fisher e Boer (1994). A face exposta do músculo *Longissimus lumborum* direito e esquerdo foram desenhadas em papel vegetal. Posteriormente a área foi mensurada com auxílio do software ImageJ (Institutos Nacionais de Saúde, Bethesda, Maryland, EUA) para obtenção da área de olho de lombo (AOL). A espessura de parede corporal (EPC) foi mensurada dos dois lados da carcaça, considerando a profundidade do tecido mole (músculo e gordura) e a 12ª costela em um ponto à 11 cm de distância da linha média do lombo (Cezar; Souza, 2007). A partir dos valores obtidos do lado direito e esquerdo da carcaça, foi calculada a média aritmética de EGS, AOL e EPC por carcaça.

4.2.5 Avaliação morfológica do epitélio ruminal

Um fragmento de aproximadamente 5 cm² da região cranial do saco dorsal do rúmen de cada animal foi coletada e armazenada em fracos contendo solução de álcool 70%. Os fracos foram mantidos sob refrigeração por um dia até o momento da avaliação do epitélio ruminal. Para a avaliação, um fragmento de 1 cm² foi utilizado para contagem do número de papilas por três avaliadores (Pereira et al., 2020; Resende-Junior et al., 2006). Após a contagem do número de papilas, doze papilas foram removidas aleatoriamente do fragmento e com esse fragmento foram dispostas em lâminas de vidro e escaneadas em um escâner (Samsung SCX 4200, Seul, Coreia do Sul).

As variáveis morfológicas macroscópicas avaliadas foram número de papilas por cm² de parede (NP), altura, largura e área média das papilas (AMP), área da superfície absortiva por cm² de parede (ASA) e porcentagem de papilas por área de superfície absortiva (% papilas/ASA). A área da superfície absortiva bem como a área e a altura das papilas foram mensuradas utilizando-se o programa para análise de imagens ImageJ (Institutos Nacionais de Saúde, Bethesda, Maryland, EUA). A área de superfície absortiva da parede (ASA) em centímetros quadrados foi calculada como: 1 + (NP × AMP) - (NP × 0,002), onde 1 representa 1 cm^2 de fragmento coletado e 0,002 é a área basal estimada das papilas em centímetros quadrados. A área das papilas, expressa em porcentagem de ASA, foi calculada como: (NP × AMP)/(ASA × 100) (Pereira et al., 2020; Resende-Junior et al., 2006).

4.2.6 Análises laboratoriais

Após descongeladas, as amostras dos ingredientes, das dietas ofertadas e das sobras foram secas em estufa de ventilação forçada a 55 ºC por 72 horas para determinação da matéria seca à 55 ºC. Posteriormente as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm. Após a moagem, as amostras foram secas em estufa a 105 °C por 24 horas para determinação da matéria seca à 105 ºC. A matéria mineral (MM) foi determinada pela incineração das amostras em mufla a 550 °C por 4 horas (AOAC, 1990), subtraindo a MM de 100, obteve-se a matéria orgânica (MO). A concentração de nitrogênio total foi mensurada utilizando um aparelho Leco FP528 (Leco

Corporation, St. Joseph, Michigan, EUA; AOAC, 1997). A proteína bruta foi calculada multiplicando a concentração de nitrogênio total por 6,25. A determinação da fração fibrosa foi realizada pelo método sequencial, utilizando α-amilase termoestável e sulfito de sódio para análise de fibra em detergente neutro (FDN; Van Soest et al., 1991), e a fibra em detergente ácido (FDA; Goering; Van Soest, 1970), utilizando um aparelho Ankom A2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, Nova Iorque, EUA). O teor de extrato etéreo foi determinado utilizando um aparelho extrator Ankom XT15 (Ankom Tech Corp., Macedon, Nova Iorque, EUA).

4.2.7 Determinação do perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional

As etapas de extração e metilação dos ácidos graxos foram realizadas conforme descrito por Ferreira et al. (2014).

O perfil de ácidos graxos foi determinado em um cromatógrafo gasoso Shimadzu, Série 2010 Plus, equipado com uma coluna Supelco (100 m × 0,25 mm × 0,25 µm), acoplado a um detector de ionização de chama (FID). A programação de temperatura iniciou em 140 ºC, permanecendo nessa temperatura durante 5 minutos, na sequência, a uma taxa de 4 ºC/min, a programação atingiu 240 °C permanecendo nessa condição por 15 minutos. A temperatura do detector FID foi de 240 °C e do injetor de 230 ºC. Como gás de arraste foi utilizado hidrogênio com velocidade linear de 20,0 cm/s. O volume da injeção foi de 1,0 µL no modo split de 1/10. A identificação dos ácidos graxos foi realizada com base no tempo de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos dos padrões. Foi utilizado um padrão de 37 compostos (Supelco mix C4 - C24 – CRM47885 – Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA). Para identificação dos ácidos graxos C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 foi utilizado o padrão de ácido linoleico conjugado (O5507- Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA).

A atividade da enzima Δ^9-dessaturase e elongases foi determinada conforme descrito por Malau-Aduli et al. (1997), por meio de índices matemáticos. Os cálculos foram realizados da seguinte maneira:

C14 index = 100 × [(C14:1 *cis*-9) / (C14:1 *cis*-9 + C14:0)];

C16 index = 100 × [(C16:1 *cis*-9) / (C16:1 *cis*-9 + C16:0)];

C18 index = 100 × [(C18:1 *cis*-9) / (C18:1 *cis*-9 + C18:0)];

Total dessaturase index = 100 × [(C14:1 *cis*-9 + C16:1 *cis*-9 + C18:1 *cis*-9) / (C14:1 *cis*-9 + C16:1 *cis*-9 + C18:1 *cis*-9 + C14:0 + C16:0 + C18:0)];

Elongase = 100 × [(C18:1 *cis*-9 + C18:0) / (C16:1 *cis*-9 + C16:0 + C18:1 *cis*-9 + C18:0)].

Os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) foram estimados de acordo com Ulbricht e Southgate (1991), como indicador para o risco de doenças cardiovasculares:

IA = [C12:0 + (4 × C14:0) + C16:0] / (ΣMUFA + Σn6 + Σn3);

IT = (C12:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 × ΣMUFA) + (0,5 × Σn6) + (3 × Σn3) + (n3/n6)].

Em que: ΣMUFA = somatório de ácidos graxos monoinsaturados; Σn6 = somatório dos ácidos graxos da série ômega-6; Σn3 = somatório dos ácidos graxos da série ômega-3; n3/n6 = relação ômega-6:ômega-3.

A razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (h/H) foi calculada de acordo com Fernández et al. (2007):

h/H = (C18:1 *cis*-9 + PUFA) – (C12:0 + C14:0 + C16:0).

O índice de promoção a saúde (IPS) foi calculado de acordo com Chen et al. (2004):

IPS = (ΣPUFA n3 + ΣPUFA n6 + ΣMUFA) / [C12:0 + (4 × C14:0) + C16:0].

4.2.8 Caracterização dos compostos presentes no óleo essencial

A caracterização do óleo essencial de laranja (CP Kelco Brasil S/A – Matão, São Paulo, Brasil) foi realizada no Laboratório de Óleos e Gorduras do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN/ESALQ) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil. A composição do óleo essencial de laranja é descrita na Tabela 9.

Tabela 9. Composição do óleo essencial de laranja.

Composto[1]	**%**
D-limoneno	95,1
Mirceno	3,8
α-pineno	1,1

[1]Quantidade relativa dos compostos identificados com base na área de cada pico no cromatograma.

A identificação dos compostos voláteis foi efetuada em cromatografia gasosa/espectrometria de massa (HS-GC/MS) em um GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu Corp., Tóquio, Japão). Foi utilizado uma coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; metil silicone 5% como fase estacionária; Bellefonte, PA). O gás de arraste utilizado foi o hélio no fluxo de 1,0 mL/min. O espectro de massa foi adquirido via ionização a 70 eV na faixa de 40 a 500 *m/z*. Amostras de 1 µL foram injetadas em modo split. A temperatura do injetor e detector foi de 220 a 230 ºC. A rampa de temperatura começou em 50 ºC sendo mantida por 1,5 min, seguida de 200 °C a 4 °C/min e 240 °C a 10 °C/min, mantida por 7 min. Para identificação dos compostos voláteis, os dados (tempo de retenção e área no TIC) foram processados usando o software GCMS Solution (versão 4.20) (Shimadzu, Tóquio, Japão). A identificação foi feita por similaridade com dados de bibliotecas (WILEY8.LIB e FFNSC1.3.lib) e por cálculo do índice de retenção linear (LRI) por corrida de série de alcanos C7-C30 (Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA).

4.2.9 Análise estatística

Os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (1999). Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos resíduos e remoção de outliers. A homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. O modelo estatístico para medidas repetidas foi: $Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + e_{ij} + P_k + (TP)_{jk} + e_{ijk}$, em que: μ = média geral, B_i = efeito de bloco (i= 1 a 8), T_j = efeito de tratamento (j = 1 a 5), e_{ij} = erro residual A, P_k = efeito de período (k = 1 a 3), $(TP)_{jk}$ = interação entre tratamento e período experimental, e_{ijk} = erro residual B. Para medidas únicas, foi utilizado o seguinte modelo: $Y = \mu + B_i + T_j + e_{ij}$, em que: μ = média geral, B_i = efeito de bloco (i = 1 a 8), T_j = efeito de tratamento (j = 1 a 5), e_{ij} = erro residual. A matriz de covariância que melhor se ajustou aos conjuntos de dados foi a simétrica composta (CS). As médias de cada tratamento foram obtidas utilizando o comando LSMEANS. Os efeitos dos teores de inclusão do OEL (L0, L100, L500 e L1000) nas dietas foram avaliados por meio de contrastes ortogonais, linear (L) e quadrático (Q). O PROC IML do SAS (1999) foi usado para obter os coeficientes apropriados para os contrastes ortogonais. Para comparar o efeito dos tratamentos foram realizados dois contrastes: 1 – dieta com monensina (controle positivo) *vs*. dieta sem aditivo (controle negativo) (M25 *vs*. L0) e 2 – dietas com OEL *vs*. dieta com

monensina (OEL *vs*. M25). Os efeitos dos períodos e da interação entre os tratamentos e os períodos foram definidos pelo teste F da análise de variância (ANOVA). Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,05$.

4.3 Resultados

4.3.1 Desempenho e características de carcaça

Os resultados de desempenho e características de carcaça são apresentados na Tabela 10. O aumento nos teores de OEL promoveu aumento linear no CMS (g/dia, %PV, $\%PV^{0,75}$; $P < 0,05$), GMD ($P < 0,001$), EA ($P = 0,03$) e PCA ($P = 0,004$). O tratamento M25 teve menor CMS (g/dia, %PV, $PV0^{,75}$; $P < 0,05$), GMD ($P = 0,003$) e PCA ($P = 0,02$) quando comparado ao tratamento L0. Nessa mesma comparação não houve diferença na EA. As dietas com OEL comparadas ao tratamento M25 tiveram maior CMS (g/dia, %PV, $PV0^{,75}$; $P < 0,05$), GMD ($P < 0,001$), EA ($P = 0,001$) e PCA ($P < 0,0001$).

Os teores de OEL não alteraram a contagem de oocistos/g de fezes. O tratamento M25 comparado à L0 reduziu a contagem de oocistos ($P < 0,01$). As dietas contendo OEL tiveram maior contagem de oocistos em relação à M25 ($P = 0,02$).

O PCQ, PCF, EGS, AOL e EPC aumentaram linearmente ($P < 0,05$) com a inclusão de OEL na dieta. Na comparação entre M25 e L0 não houve diferença sobre às características de carcaça. Entretanto, as dietas com OEL comparadas à M25 proporcionaram maior PCQ, PCF, EGS, AOL e EPC ($P < 0,05$). O RCQ e RCF não diferiram entre os tratamentos.

Tabela 10. Desempenho e características de carcaça de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica.

Itens[4]	Tratamentos[1]					EPM[2]	*P-valor*[3]					
	L0	L100	L500	L1000	M25		L	Q	M25 *vs.* L0	OEL *vs.* M25	P	T × P
Idade Inicial (dias)	87	86	86	87	88	14,59	-	-	-	-	-	-
PI (kg)	21,7	21,8	21,6	21,8	21,8	4,65	-	-	-	-	-	-
PCA (kg)	42,9	44,5	45,7	46,4	38,2	1,31	0,004	0,99	0,02	<0,0001	-	-
CMS (g/dia)	944	963	1007	1021	781	42,3	0,01	0,75	0,01	0,0001	<0,001	0,76
CMS (% PV)	2,88	2,89	3,03	2,94	2,56	0,079	0,02	0,45	<0,01	<0,001	<0,0001	0,54
CMS (% $PV^{0,75}$)	6,95	7,02	7,32	7,18	6,09	0,195	0,004	0,59	<0,01	<0,0001	<0,0001	0,65
GMD (g/dia)	253	270	285	299	194	12,8	<0,001	0,97	0,003	<0,0001	<0,001	0,62
EA	0,275	0,284	0,290	0,303	0,257	0,0082	0,03	0,92	0,14	0,001	<0,0001	0,67
OOPG	16,93	12,19	12,23	10,20	5,37	1,304	0,59	0,56	<0,01	0,02	<0,01	0,38
Características de carcaça												
PCQ (kg)	22,5	23,5	24,3	24,8	20,2	0,86	0,01	0,94	0,07	<0,001	-	-
PCF (kg)	22,1	22,0	23,7	24,1	19,7	0,85	0,02	0,97	0,06	<0,001	-	-
RCQ (%)	52,2	52,8	52,9	53,1	52,7	0,58	0,49	0,80	0,57	0,73	-	-
RCF (%)	51,2	51,5	51,7	51,8	51,5	0,69	0,57	0,93	0,75	0,76	-	-
PR (%)	2,02	2,37	1,91	2,23	1,99	0,092	0,77	<0,01	0,11	0,82	-	-
EGS (mm)	2,03	3,04	3,19	3,33	2,38	0,304	<0,01	0,26	0,43	0,03	-	-
AOL (cm^2)	10,34	12,19	12,18	14,90	10,22	0,381	<0,01	0,11	0,86	<0,0001	-	-
EPC (mm)	17,99	21,01	23,23	23,98	17,05	1,113	<0,001	0,79	0,55	<0,001	-	-

[1]L0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); L100: adição de 100 mg de OEL/kg de MS; L500: adição de 500 mg de OEL/kg de MS; L1000: adição de 1000 mg de OEL/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs.* L0: dieta controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo) *vs.* dieta com 25 mg de monensina /kg de MS (controle positivo); OEL *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de laranja *vs.* dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo); P: efeito de período; T×P: efeito entre tratamento e período. [4]PCA: peso corporal ao abate; CMS: consumo de matéria seca; % PV: porcentagem do peso vivo; % $PV^{0,75}$: porcentagem do peso metabólico; GMD: ganho médio diário; EA: eficiência alimentar; OOPG: oocistos/g de fezes; PCQ: peso de carcaça quente; PCF: Peso de carcaça fria; RCQ: rendimento de carcaça quente; RCF: rendimento de carcaça fria; PR: perda por resfriamento; EGS: espessura de gordura subcutânea; AOL: área de olho de lombo; EPC: espessura de parede corporal.

4.3.2 Comportamento ingestivo

Os resultados referentes ao comportamento ingestivo são apresentados na Tabela 11. O acréscimo nos teores de OEL na dieta refletiu em aumento linear no CMS (P = 0,03). Quando a dieta M25 foi comparada a L0, o CMS foi menor no tratamento M25 (P = 0,05). Na comparação entre as dietas com OEL e M25, houve maior (P < 0,001) CMS quando as dietas continham OEL. O consumo de FDN não diferiu com o aumento nos teores de OEL. Na comparação entre M25 e L0, o consumo de FDN foi menor (P = 0,04) em M25. As dietas com OEL tiveram maior (P < 0,001) consumo de FDN quando comparadas ao tratamento M25.

O número de refeições não foi afetado pelo aumento nos teores de OEL na dieta. O número de refeições também não diferiu entre os tratamentos M25 e L0. Entretanto, na comparação com M25, as dietas com OEL tiveram menor (P = 0,04) número de refeições.

O tempo de alimentação (min/dia) não diferiu entre os tratamentos experimentais. Entretanto, o incremento nos teores de OEL conferiu redução linear (P < 0,05) sobre as taxas de alimentação (min/g de MS e min/g de FDN). As taxas de alimentação (min/g de MS e min/g de FDN) não diferiram na comparação entre M25 e L0. Porém, foi observado menores (P < 0,05) taxas de alimentação (min/g de MS e min/g de FDN) quando as dietas continham OEL.

O tempo de ruminação (min/dia) não foi afetado pelos tratamentos. As taxas de ruminação (min/g de MS e min/g de FDN) não foram afetadas pelo aumento nos teores de OEL na dieta. Na comparação entre M25 e L0 as taxas de ruminação (min/g de MS e min/g de FDN) não foram alteradas. Mas as taxas de ruminação (min/g de MS e min/g de FDN) foram menores (P < 0,05) para as dietas contendo OEL quando comparadas ao tratamento M25.

O tempo de mastigação (min/dia) não foi afetado pelos tratamentos experimentais. O aumento nos teores de OEL na dieta conferiu efeito linear decrescente (P < 0,05) sobre as taxas de mastigação (min/g de MS e min/g de FDN). O tratamento M25 teve maiores (P < 0,05) taxas de mastigação (min/g de MS e min/g de FDN) comparado ao tratamento L0. As dietas com OEL tiveram menores (P < 0,05) taxas de mastigação (min/g de MS e min/g de FDN) comparadas ao tratamento M25.

O tempo em ócio e de ingestão de água (min/dia) não foram afetados pelos tratamentos experimentais.

Tabela 11. Comportamento ingestivo de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica.

Itens[4]	Tratamentos[1]					EPM[2]	*P-valor*[3]					
	L0	L100	L500	L1000	M25		L	Q	M25 *vs.* L0	OEL *vs.* M25	P	T×P
CMS (g/dia)	1130	1191	1197	1277	983	48,8	0,03	0,70	0,05	<0,001	0,11	0,61
CFDN (g/dia)	192	198	198	215	169	7,6	0,07	0,75	0,04	<0,001	0,01	0,61
N.º de refeições	15,4	15,0	15,9	14,7	16,8	0,62	0,74	0,47	0,12	0,04	<0,01	0,36
Alimentação												
min/dia	173	154	165	157	174	11,2	0,37	0,24	0,94	0,21	<0,0001	0,58
min/g de MS	0,16	0,13	0,13	0,13	0,18	0,014	<0,001	0,23	0,10	<0,0001	<0,0001	0,13
min/g de FDN	0,94	0,78	0,79	0,75	1,04	0,052	<0,01	0,19	0,20	<0,001	<0,001	0,12
Ruminando												
min/dia	341	342	348	358	336	17,7	0,67	0,89	0,82	0,51	0,08	0,25
min/g de MS	0,31	0,28	0,30	0,29	0,35	0,023	0,24	0,37	0,17	0,02	0,47	0,12
min/g de FDN	1,92	1,69	1,81	1,68	2,05	0,134	0,19	0,27	0,46	0,03	<0,001	0,18
Mastigando												
min/dia	515	497	511	518	509	18,72	0,89	0,46	0,84	0,98	0,42	0,34
min/g de MS	0,46	0,41	0,43	0,41	0,53	0,033	<0,01	0,20	0,03	<0,0001	0,20	0,19
min/g de FDN	2,72	2,48	2,59	2,43	3,10	0,141	0,02	0,22	0,03	<0,0001	0,01	0,15
Ócio (min/dia)	919	935	923	914	927	18,6	0,92	0,51	0,76	0,89	0,45	0,33
IA (min/dia)	6,1	7,6	5,9	6,0	3,9	1,48	0,53	0,38	0,29	0,14	0,43	0,98

[1]L0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); L100: adição de 100 mg de OEL/kg de MS; L500: adição de 500 mg de OEL/kg de MS; L1000: adição de 1000 mg de OEL/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs.* L0: dieta controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo) *vs.* dieta com 25 mg de monensina /kg de MS (controle positivo); OEL *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de laranja *vs.* dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo); P: efeito de período; T×P: efeito entre tratamento e período. [4] CMS: consumo de matéria seca; CFDN: consumo de fibra em detergente em neutro IA: ingestão de água.

4.3.3 Caracterização do epitélio ruminal

As variáveis estudadas para caracterização do epitélio ruminal não foram afetadas pelos tratamentos experimentais (Tabela 12).

Tabela 12. Caracterização macroscópica do epitélio ruminal de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica.

Itens[4]	**Tratamentos[1]**					**EPM[2]**	***P-valor*[3]**			
	L0	**L100**	**L500**	**L1000**	**M25**		**L**	**Q**	**M25 *vs.* L0**	**OEL *vs.* M25**
Papila (n°/cm^2)	96,62	88,04	88,04	92,00	82,75	5,868	0,69	0,53	0,11	0,34
Altura (cm)	0,62	0,64	0,60	0,64	0,60	0,023	0,59	0,25	0,59	0,36
Largura (cm)	0,25	0,27	0,24	0,26	0,24	0,011	0,82	0,10	0,76	0,35
Área papila (cm^2)	0,30	0,33	0,31	0,31	0,29	0,019	0,26	0,17	0,78	0,17
ASA (cm^2)	29,43	30,74	24,92	30,88	24,96	1,082	0,46	0,21	0,14	0,13
%papila/ASA	96,88	96,95	96,17	96,97	96,43	0,281	0,19	0,21	0,26	0,42

[1]L0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); L100: adição de 100 mg de OEL/kg de MS; L500: adição de 500 mg de OEL/kg de MS; L1000: adição de 1000 mg de OEL/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs.* L0: dieta controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo) *vs.* dieta com 25 mg de monensina /kg de MS (controle positivo); OEL *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de laranja *vs.* dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo). [4] ASA: área de superfície absortiva; %papilas/ASA: porcentagem de papilas por área de superfície absortiva.

4.3.4 Perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional

Os resultados referentes ao perfil de ácidos graxos da carne são apresentados na Tabela 12. O aumento nos teores de OEL diminuiu linearmente a proporção de C8:0 (P = 0,01) e o índice de promoção à saúde humana IPS (P = 0,04). As demais variáveis associadas ao perfil de ácidos graxos da carne não foram afetadas pelo aumento nos teores de OEL na dieta.

A gordura da carne dos cordeiros do tratamento M25 teve maior proporção de C18:0 (P < 0,01) e maior índice de trombogenicidade (P = 0,03) em relação ao tratamento L0. O tratamento M25 comparado ao tratamento L0, contribuiu para o aumento no ΣMUFA (P = 0,05) e redução no índice de dessaturação dos ácidos graxos com 18 carbonos e o índice de dessaturação total (P < 0,05). A proporção dos demais ácidos graxos, bem como os demais índices enzimáticos e os índices associados a qualidade nutricional da gordura da carne não diferiram entre os tratamentos M25 e L0.

Quando as dietas com OEL foram comparadas ao tratamento M25 foi observado menor proporção dos ácidos graxos C6:0, C8:0 e C18:0 nas dietas com OEL (P < 0,05). As dietas com OEL tiveram maior relação n6/n3 (P = 0,03) e menor índice de trombogenicidade (P < 0,01) quando comparas ao tratamento M25. A inclusão de OEL na dieta aumentou a proporção de C16:1 *cis*-9, o somatório dos ácidos graxos monoinsaturados (ΣMUFA), o índice de dessaturação dos ácidos graxos de 16 e 18 carbonos e o índice de dessaturação total em relação ao tratamento M25 (P < 0,05). A adição de OEL aumentou o IPS em relação ao tratamento M25 (P = 0,05). Os demais ácidos graxos, o índice de dessaturação dos ácidos graxos com 14 carbonos, o índice de elongação e os demais índices ligados a qualidade nutricional da gordura da carne não diferiram na comparação entre as dietas com OEL e o tratamento M25.

Tabela 13. Perfil de ácidos graxos (% FAME) do músculo *Longissimus lumborum* de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. *(continua)*

Itens[4]	**Tratamentos**[1]					**EPM**[2]	***P-valor*** [3]			
	L0	**L100**	**L500**	**L1000**	**M25**		**L**	**Q**	**M25 *vs.* L0**	**OEL *vs.* M25**
C6:0	0,026	0,019	0,024	0,027	0,035	0,0033	0,12	0,15	0,06	<0,01
C8:0	0,030	0,007	0,005	0,021	0,039	0,0129	0,01	0,21	0,22	<0,01
C10:0	0,212	0,091	0,094	0,097	0,106	0,0455	0,35	0,64	0,44	0,15
C12:0	0,070	0,062	0,061	0,081	0,068	0,0066	0,56	0,95	0,53	0,95
C13:0	0,030	0,032	0,021	0,052	0,026	0,0173	0,90	0,12	0,50	0,67
C14:0	1,42	1,53	1,42	1,68	1,44	0,073	0,94	0,19	0,88	0,16
C14:1 c9	0,074	0,075	0,061	0,090	0,058	0,0075	0,60	0,35	0,09	0,06
C15:0	0,42	0,46	0,42	0,43	0,43	0,025	0,78	0,18	0,80	0,68
C16:0	21,24	20,78	20,94	21,24	21,16	0,406	0,52	0,54	0,89	0,76
C16:1 c9	1,50	1,52	1,44	1,78	1,33	0,072	0,71	0,57	0,07	<0,01
C17:0	1,87	2,01	1,93	1,70	2,05	0,129	0,97	0,40	0,27	0,21
C18:0	10,48	10,92	11,43	10,42	12,41	0,482	0,92	0,93	<0,01	<0,01
C18:1 c9	38,66	39,52	37,72	37,14	36,27	0,860	0,73	0,24	0,06	0,07
C18:1 t9	3,41	3,67	3,97	3,78	3,21	0,358	0,08	0,94	0,64	0,10
C18:1 t11	1,12	1,36	1,54	1,48	1,35	0,168	0,13	0,86	0,33	0,59
C18:2 c9,12	6,00	6,20	6,48	6,32	6,06	0,447	0,41	0,93	0,92	0,60
C18:2 c9, t11	0,121	0,160	0,126	0,157	0,122	0,0157	0,61	0,07	0,96	0,15
C18:2 t10, c12	0,101	0,101	0,121	0,116	0,097	0,0136	0,23	0,55	0,85	0,34
C18:3 c9,12,15	0,209	0,245	0,224	0,211	0,214	0,0193	0,21	0,19	0,53	0,12
C18:3 n-6	0,090	0,082	0,090	0,082	0,087	0,0074	0,99	0,42	0,81	0,77
C20:2 c11,14	0,054	0,057	0,062	0,066	0,059	0,0060	0,40	0,90	0,61	0,61
C20:5 n-3	0,035	0,042	0,041	0,043	0,042	0,0234	0,89	0,46	0,83	0,68
C21:3 c11,14,17	0186	0,176	0,185	0,179	0,200	0,0174	0,67	0,68	0,58	0,33
C22:0	0,210	0,195	0,222	0,204	0,218	0,0238	0,43	0,77	0,25	0,14

Tabela 13. Perfil de ácidos graxos (% FAME) do músculo *Longissimus lumborum* de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de laranja (OEL) ou monensina sódica. (*conclusão)*

Itens[4]	**Tratamentos**[1]					**EPM**[2]	***P-valor***[3]			
	L0	**L100**	**L500**	**L1000**	**M25**		**L**	**Q**	**M25 *vs.* L0**	**OEL *vs.* M25**
C22:6 n-3	0,285	0,261	0,286	0,275	0,312	0,0315	0,66	0,50	0,49	0,13
C23:0	2,25	2,07	2,19	1,92	2,49	0,277	0,47	0,62	0,50	0,21
ΣSFA	35,83	35,39	35,87	35,49	37,20	0,707	0,43	0,63	0,17	0,06
ΣMUFA	40,23	41,10	39,22	38,92	37,66	0,876	0,72	0,24	0,05	0,05
ΣPUFA	6,30	6,52	6,80	6,61	6,36	0,463	0,41	0,96	0,92	0,60
Σn-6	6,09	6,28	6,58	6,40	6,15	0,453	0,42	0,92	0,92	0,61
Σn-3	0,524	0,546	0,550	0,526	0,566	0,041	0,38	0,84	0,36	0,18
n-6/n-3	11,71	11,56	11,89	12,18	10,94	0,366	0,27	0,56	0,15	0,03
C14:1 Δ^9 – index	4,72	4,71	4,14	5,03	3,88	0,425	0,78	0,64	0,17	0,14
C16:1 Δ^9 – index	6,59	6,82	6,45	7,31	5,93	0,277	0,53	0,42	0,10	<0,01
C18:1 Δ^9 – index	77,95	78,31	76,66	78,09	74,50	0,938	0,69	0,43	0,01	<0,01
Δ^9-total	54,44	55,27	53,67	53,76	51,81	0,764	0,50	0,23	0,02	0,01
Elongase index	68,58	69,33	68,72	67,35	68,37	0,522	0,60	0,31	0,78	0,87
Trombogenicidade	1,30	1,25	1,32	1,31	1,42	0,039	0,32	0,26	0,03	<0,01
Aterogenicidade	0,58	0,56	0,57	0,61	0,61	0,018	0,30	0,47	0,31	0,22
h/H	1,91	2,06	2,02	1,93	1,88	0,061	0,06	0,17	0,73	0,06
IPS	1,65	1,77	1,76	1,65	1,61	0,053	0,04	0,27	0,59	0,05

[1]L0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); L100: adição de 100 mg de OEL/kg de MS; L500: adição de 500 mg de OEL/kg de MS; L1000: adição de 1000 mg de OEL/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs.* L0: dieta controle negativo (dieta sem inclusão de aditivo) *vs.* dieta com 25 mg de monensina /kg de MS (controle positivo); OEL *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de laranja *vs.* dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo). [4]ΣSFA: somatório dos ácidos graxos saturados; ΣMUFA: somatório dos ácidos graxos monoinsaturados; ΣPUFA: somatório dos ácidos graxos poli-insaturados; Σn-6: somatório dos ácidos graxos da série ômega-6; Σn-3: somatório dos ácidos graxos da série ômega-3; n-6/n-3: relação ômega-6/ômega-3; C14:1 Δ^9 – index = 100 [(C14:1 *cis*-9) / (C14:1 *cis*-9 + C14:0)]; C16:1 Δ^9 – index = 100 [(C16:1 *cis*-9) / (C16:1 *cis*-9 + C16:0)]; C18:1 Δ^9 – index = 100 [(C18:1 *cis*-9) / (C18:1 *cis*-9 + C18:0)]; Δ^9 – total = (C14:1Δ^9 – index + C16:1Δ^9 – index + C18:1Δ^9 – index); Elongase index = 100 [(C18:1 *cis*-9 + C18:0) / (C16:1 *cis*-9 + C16:0 + C18:1 *cis*-9 + C18:0)]; h/H: proporção hipocolesterolêmico e hipercolesterolêmico; IPS: índice de promoção a saúde humana.

4.4 Discussão

4.4.1 Desempenho e características de carcaça

Segundo o NRC (2007), o consumo de energia é determinante sobre o GMD. Dessa forma, o acréscimo no CMS e consequentemente no consumo de energia proporcionou maior GMD quando as dietas continham OEL. Entretanto, o aumento linear na EA quando os teores de OEL aumentaram na dieta é um indicativo de que outros fatores possam ter contribuído para o aumento no GMD. Já é bem estabelecido que alguns óleos essenciais podem modular a fermentação ruminal e favorecer o desempenho animal. Entretanto, os óleos essenciais também podem atuar sobre aspectos fisiológicos, digestivos e antioxidantes, e consequentemente aumentar o GMD e melhorar a EA (Nehme et al., 2021). O teor de 1000 mg de OEL/kg de MS foi o mais promissor em promover o desempenho, pois aumentou em 15% o GMD e em 9% a EA em relação ao tratamento L0. Por sua vez, na comparação com M25, a inclusão de 1000 mg de OEL/kg de MS aumentou em 35% o GMD e 15% a EA.

O D-limoneno foi o principal composto encontrado no OEL (95,1%). No metabolismo ruminal, Samii et al. (2016) não observaram efeito sobre os produtos da fermentação ruminal quando teores de D-limoneno (10, 20, 40 e 80 mg/kg de MS) foram adicionadas a uma dieta contendo 70% de concentrado para bovinos. Porém, em experimento *in vitro,* o D-limoneno associado a uma dieta com elevada inclusão de concentrado aumentou a concentração de propionato e diminuiu a produção de metano (Crane et al., 1957). Em relação aos aspectos fisiológicos, o D-limoneno foi indicado como promotor de crescimento em peixes (Aanyu et al., 2018) e codornas (Dalkilic et al., 2015). Nesses trabalhos, o D-limoneno foi relacionado ao aumento na taxa de crescimento, que foi relacionado a maior síntese do fator semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1). Aanyu et al. (2018) também descreveram que a utilização de D-limoneno na alimentação de peixes foi responsável pelo aumento na expressão do gene associado a produção de muco, o que foi relacionado a melhor absorção de nutrientes e aproveitamento da dieta. Os mesmos autores também relataram que o D-limoneno aumentou a expressão do gene transportador de oligopeptídeos no intestino, o que foi relacionado ao transporte mais eficiente de di e tripeptídeos no intestino. Apesar dos efeitos positivos destacados para o D-limoneno em outras espécies, as variáveis apontadas não foram mensuradas no presente estudo. No entanto, acredita-

se que esses fatores possivelmente foram promovidos no presente estudo, uma vez que o GMD e EA aumentaram consideravelmente em resposta a maior inclusão de OEL na dieta. Essa hipótese é sustentada pela ausência de efeito sobre as características de fermentação de ruminal no Experimento 1, utilizando o mesmo óleo essencial e o mesmo padrão de dieta. Diante dos resultados obtidos no experimento de desempenho, fica evidente a necessidade de mais pesquisas com o OEL como fonte de D-limoneno, pois os efeitos relacionados aos parâmetros fisiológicos são escassos para ruminantes.

Quando o tratamento M25 foi comparado ao tratamento L0, o GMD foi menor em M25, o que concorda com o menor CMS observado nesse tratamento. Por sua vez, na comparação entre as dietas com OEL e M25, as dietas com OEL tiveram maior GMD. Esse resultado é explicado pelo maior CMS quando os animais receberam dietas contendo OEL. A monensina sódica é conhecida por reduzir o CMS e aumentar a EA (Duffield et al., 2012; Tedeschi et al., 2003). No entanto, no presente trabalho a dose de 25 mg de monensina prejudicou o desempenho dos animais. Este achado concorda com Polizel et al. (2021), os quais reportaram redução no desempenho de cordeiros recebendo uma dieta com 90% de concentrado e inclusão de 24 mg de monensina/kg de MS. Os mesmos autores destacaram que a dose 8 mg/kg de MS foi a mais eficiente em otimizar o desempenho de cordeiros recebendo dietas ricas em energia. Dessa forma, doses menores de monensina podem ser mais promissoras quando utilizadas como controle positivo em estudos avaliando aditivos na dieta de cordeiros em confinamento.

Apesar dos resultados inferiores sobre o desempenho, a dose de 25 mg de monensina/kg de MS foi a mais eficiente em controlar a coccidiose no presente estudo. Esse resultado evidencia a necessidade de pesquisas para avaliar o efeito de diferentes doses de monensina sobre o desempenho e o controle da coccidiose em cordeiros confinados, uma vez que na literatura não é descrito uma dose ideal de monensina que possibilite otimizar esses fatores. O OEL reduziu em 32% a contagem de oocistos em comparação ao tratamento sem aditivo (L0). Gaínza et al. (2015) observaram em estudo *in vitro* que o D-limoneno possui efeito pronunciado sobre parasitas gastrointestinais. Os resultados do presente trabalho indicam que o OEL pode ter efeito promissor no controle da coccidiose. No entanto, é necessário o desenvolvimento de mais pesquisas para a adequação do teor ideal de OEL no controle da coccidiose em cordeiros em confinamento.

O aumento linear no PCA, PCQ, PCF, EGS, AOL e EPC teve relação direta com o maior GMD dos animais em resposta à inclusão de teores crescentes de OEL nas dietas. É reportado que altas doses de óleo essencial podem reduzir o PCQ e PCF (Torres et al., 2020). Entretanto, existe uma grande divergência nos resultados da literatura sobre esses parâmetros, onde a magnitude da resposta sobre esses parâmetros é associada ao tipo de óleo essencial, sua composição, a dose e as características nutricionais da dieta (Khiaosa-Ard; Zebeli, 2013). Do mesmo modo, o maior GMD dos animais alimentados com as dietas contendo OEL explica o maior PCA, PCQ e PCF na comparação com os animais alimentados com a dieta M25.

4.4.2 Comportamento ingestivo

O aumento linear sobre o CMS na avaliação do comportamento ingestivo quando os teores de OEL aumentaram na dieta é um indicativo que o OEL pode ter melhorado a aceitabilidade da dieta. É relatado na literatura que alguns óleos essenciais podem melhorar a aceitabilidade da dieta e otimizar o CMS e o desempenho em outras espécies (Franz et al., 2009). Possivelmente, o aumento nos teores de OEL melhorou a aceitabilidade da dieta pelos cordeiros do presente estudo, e resultou em aumento no CMS. Informações sobre os efeitos dos óleos essenciais em melhorar a aceitabilidade da dieta e promover positivamente o CMS são escassas para ruminantes. Óleos essenciais quando fornecidos a ruminantes são relacionados ao comprometimento do CMS, devido ao sabor e odor acentuado (Nehme et al., 2021). Estell et al. (1998) relataram que os compostos secundários das plantas podem afetar o consumo de ovelhas. Entretanto, os mesmos autores destacaram que o D-limoneno em comparação a outros compostos (canfora, α-pineno e borneol) não comprometeu o CMS. Franz et al. (2009) evidenciaram a necessidade de mais pesquisas com ruminantes a fim de compreender os efeitos dos óleos essenciais sobre o consumo, uma vez que esse fator está intimamente associado à fermentação ruminal e ao desempenho animal.

O aumento na inclusão de OEL contribuiu para redução linear na taxa de alimentação (min/g de MS e min/g de FDN). Esses resultados concordam com o aumento no consumo de MS e FDN, ou seja, a maior inclusão de OEL refletiu em menor tempo de ingestão para cada unidade de MS e FDN consumida. Por sua vez, a menor taxa de alimentação nas dietas com OEL em comparação ao tratamento M25,

pode ser justificada pelo maior CMS quando as dietas continham OEL, pois o tempo de alimentação não diferiu para essa mesma comparação.

As taxas de ruminação e mastigação (min/g de MS e min/g de FDN) foram menores nas dietas contendo OEL quando comparadas ao tratamento M25. Esse resultado pode ser associado à redução no número de refeições na comparação entre as dietas com OEL e M25. A monensina pode modular o padrão de consumo dos animais, aumentando o número de refeições (Goodrich et al., 1984), possibilitando maior frequência de substrato fermentescível que chega ao rúmen com potencial de estimular a ruminação.

As menores taxas de ruminação e mastigação nas dietas contendo OEL, alinhadas ao maior consumo de MS e FDN, indicam que a eficiência de ruminação e mastigação foi menor nas dietas com OEL quando comparadas ao tratamento M25. A maior taxa de ruminação e mastigação observada para o tratamento M25 pode ser justificada pelo menor consumo de FDN em relação aos demais tratamentos. Grant (1997) sugeriu que a redução no consumo de FDN está associada ao aumento na eficiência de ruminação e mastigação, sendo resultante de um mecanismo de adaptação que visa reduzir desordens metabólicas, como a acidose ruminal. Woodford e Murphy (1988) destacaram que o aumento na eficiência de mastigação quando o consumo de fibra é comprometido visa corrigir o pH ruminal e aumentar a passagem de partícula através do rúmen. Jaramillo-López et al. (2017) mencionaram que o aumento na eficiência de mastigação eleva a produção de saliva, o que proporciona maior entrada de tampão no rúmen e elevação do pH ruminal. É possível inferir que os resultados obtidos no comportamento ingestivo foram dependentes do consumo de MS e FDN. Dessa forma, pode-se dizer que a inclusão de OEL não exerceu efeitos extras sobre o comportamento alimentar.

4.4.3 Avaliação morfológica do epitélio ruminal

A ausência de efeito sobre as variáveis estudadas para caracterizar o epitélio ruminal indicam que os animais de todos os tratamentos apresentaram boa saúde ruminal, uma vez que condições ruminais adversas podem comprometer o desenvolvimento do epitélio ruminal (Baldwin; Connor, 2017).

4.4.4 Perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional

O aumento nos teores de OEL na dieta resultou em poucas modificações sobre o perfil de ácidos graxos da carne. Era esperado que a inclusão de OEL na dieta alterasse a proporção de alguns ácidos graxos, principalmente no que diz respeito aos intermediários do processo de biohidrogenação. Lourenço et al. (2009) observaram em experimento *in vitro* que a utilização de D-limoneno resultou em acúmulo de C18:2 *cis*-9, *trans*-11 devido ao comprometimento da extensão total do processo de biohidrogenação. Durmic et al. (2008) reportaram que alguns óleos essenciais podem inibir o crescimento de bactérias envolvidas no processo de biohidrogenação. No presente estudo, a ausência de efeito sobre a proporção dos ácidos graxos oriundos da biohidrogenação e a proporção dos ácidos graxos de cadeia ímpar indica que possivelmente os grupos de bactérias responsáveis pela biohidrogenação não foram afetados e que processo de biohidrogenação ocorreu na mesma magnitude com o aumento nos teores de OEL na dieta.

As dietas com OEL comparadas ao tratamento M25 tiveram aumento no somatório de ácidos graxos monoinsaturados (ΣMUFA), na proporção de C16:1 *cis*-9 e no índice total de dessaturação. Esses resultados são coerentes com o aumento nos índices de dessaturação dos ácidos graxos de 16 e 18 carbonos quando as dietas continham OEL. Segundo Oliveira et al. (2014), a atividade da Δ^9-dessaturase possui alta correlação com o GMD. Dessa forma, o aumento no índice de dessaturação pode ser justificado pelo aumento no GMD quando as dietas continham OEL. O aumento no índice de atividade da enzima Δ^9-dessaturase também pode justificar a redução na proporção de C18:0 nas dietas com OEL quando essas foram comparadas ao tratamento M25.

A inclusão de OEL na dieta conferiu melhor valor nutricional ao perfil de ácidos graxos da carne de cordeiro. Essa afirmação é corroborada pela redução no índice de trombogenicidade, aumento no índice de promoção a saúde humana e tendência para a redução no somatório de ácidos graxos saturados (ΣSFA; $P = 0,06$) e a relação entre os ácidos graxos hipercolesterolêmicos e hipocolesterolêmicos (h/H; P = 0,06) quando as dietas com OEL foram comparadas ao tratamento M25. O índice de trombogenicidade recomendado para carne de cordeiro é 1,33 (Ulbricht; Southgate, 1991), no presente trabalho as dietas contendo OEL tiveram uma redução de 10%

sobre o índice de trombogenicidade em relação ao tratamento M25, o que pode ser associado ao aumento no ΣMUFA nas dietas com OEL. O aumento do ΣMUFA sustenta o aumento para o índice de promoção à saúde humana quando o OEL foi utilizado, o que concorda com a ausência de efeito sobre os outros fatores utilizados para o cálculo desse índice.

A relação n-6/n-3 foi maior para os tratamentos contendo OEL em relação ao tratamento M25. No entanto, apesar do menor valor observado para o tratamento M25 esse está fora do recomendado visando os benefícios da saúde humana. Boughalmi e Araba (2016) descreveram valores aceitáveis para o benefício da saúde humana da relação n-6/n-3 estão em torno de 4:1, ou seja, abaixo do observado no presente trabalho, média de 11,65 respectivamente. Por outro lado, para Russo (2009), a proporção de até 10:1 não é prejudicial à saúde humana. Acredita-se que os resultados obtidos para relação n-6/n-3 no presente trabalho estejam associados à genética dos animais. Madruga et al. (2006) relataram que cordeiros Dorper em terminação podem depositar maiores concentrações de ácidos graxos saturados quando mais jovens, o que pode reduzir a quantidade de PUFA presente na carne e influenciar a relação n-6/n-3.

4.5 Conclusão

O OEL agiu como aditivo alimentar, tendo em vista que aumentou o ganho de peso, melhorou as características de carcaça e o valor nutricional do perfil de ácidos graxos da carne. Portanto, zootecnicamente, entre os teores avaliados, recomenda-se o uso de 1000 mg de OEL/kg de MS em dietas para cordeiros em terminação. No que se refere aos benefícios sobre o desempenho animal e as características de carcaça, o OEL foi superior a monensina sódica na dose de 25 mg/kg de MS. Contudo, vale mencionar que a monensina sódica foi mais efetiva no controle da coccidiose. Considerando que os melhores resultados de desempenho foram obtidos com o maior teor de OEL (1000 mg de OEL/kg de MS), novas pesquisas deverão ser desenvolvidas com teores superiores.

REFERÊNCIAS

Aanyu, M., Betancor, M.B., Monroig, O., 2018. Effects of dietary limonene and thymol

on the growth and nutritional physiology of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Aquaculture 488, 217–226. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.01.036

Anandakumar, P., Kamaraj, S., Vanitha, M.K., 2021. D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. J. Food Biochem. 45, 1–10. https://doi.org/10.1111/jfbc.13566

AOAC, 1997. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. Gaithersburg.

AOAC, 1990. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis, 15th ed. Arlington.

Baldwin, R.L., Connor, E.E., 2017. Rumen Function and Development. Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract. 33, 427–439. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.06.001

Boughalmi, A., Araba, A., 2016. Effect of feeding management from grass to concentrate feed on growth, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of Timahdite lamb breed. Small Rumin. Res. 144, 158–163. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.09.013

Cannas, A., Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Pell, A.N., Van Soest, P.J., 2004. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. J. Anim. Sci. 82, 149–169.

Cezar, M.F., Souza, W.H., 2007. Sheep and goat carcasses: procurement, evaluation and classification, Agropecuár. ed. Uberaba-MG.

Chen, S., Bobe, G., Zimmerman, S., Hammond, E.G., Luhman, C.M., Boylston, T.D., Freeman, A.E., Beitz, D.C., 2004. Physical and sensory properties of dairy products from cows with various milk fatty acid compositions. J. Agric. Food Chem. 52, 3422–3428. https://doi.org/10.1021/jf035193z

Crane, A., Nelson, W.O., Brown, R.E., 1957. Effects of D-Limonene and α-D-Pinene on in Vitro Carbohydrate Dissimilation and Methane Formation by Rumen Bacteria. J. Dairy Sci. 40, 1317–1323.

Dalkilic, B., Simsek, U.G., Ciftci, M., Baykalir, Y., 2015. Effect of dietary orange peel essential oil on physiological, biochemical and metabolic responses of Japanese quails as affected by early age thermal conditioning and fasting. Rev. Med. Vet. (Toulouse). 166, 154–162.

Duffield, T.F., Merrill, J.K., Bagg, R.N., 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. J. Anim. Sci. 90, 4583–4592. https://doi.org/10.2527/jas.2011-5018

Durmic, Z., McSweeney, C.S., Kemp, G.W., Hutton, P., Wallace, R.J., Vercoe, P.E., 2008. Australian plants with potential to inhibit bacteria and processes involved in ruminal biohydrogenation of fatty acids. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 271–284. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.052

Estell, R.E., Fredrickson, E.L., Tellez, M.R., Havstad, K.M., Shupe, W.L., Anderson,

D.M., Remmenga, M.D., 1998. Effects of Volatile Compounds on Consumption of Alfalfa Pellets by Sheep. J. Anim. Sci. 76, 228–233. https://doi.org/10.2527/1998.761228x

Fernández, M., Ordóñez, J.A., Cambero, I., Santos, C., Pin, C., Hoz, L., 2007. Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. Food Chem. 101, 107–112. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.006

Ferreira, E.M., Pires, A. V., Susin, I., Gentil, R.S., Parente, M.O.M., Nolli, C.P., Meneghini, R.C.M., Mendes, C.Q., Ribeiro, C.V.D.M., 2014. Growth, feed intake, carcass characteristics, and meat fatty acid profile of lambs fed soybean oil partially replaced by fish oil blend. Anim. Feed Sci. Technol. 187, 9–18. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.09.016

Filho, A.E., Carvalho, G.G.P., Pires, A.J.V., Silva, R.R., Santos, P.E.F., Murta, R.M., Pereira, F.M., Carvalho, B.M.A., Maranhão, C.M.A., Rufino, L.M.A., Santos, S.A., Pina, D.S., 2016. Intake and ingestive behavior in lambs fed low-digestibility forages. Trop. Anim. Health Prod. 48, 1315–1321. https://doi.org/10.1007/s11250-016-1090-x

Fisher, A. V., Boer, H., 1994. The EAAP standard method of sheep carcass assessment. Carcass measurements and dissection procedures report of the EAAP working group on carcass evaluation, in cooperation with the CIHEAM instituto agronomico Mediterraneo of Zaragoza and the CEC directora. Livest. Prod. Sci. 38, 149–159. https://doi.org/10.1016/0301-6226(94)90166-X

Franz, C., Baser, K.H.C., Windish, W., 2009. Essential oils and aromatic plants in animal feeding – a European perspective. A review. Flavour Fragr. J. 25, 327–340. https://doi.org/10.1002/ffj .1967

Gaínza, Y.A., Domingues, L.F., Perez, O.P., Rabelo, M.D., López, E.R., Chagas, A.C.S., 2015. Anthelmintic activity in vitro of Citrus sinensis and Melaleuca quinquenervia essential oil from Cuba on Haemonchus contortus. Ind. Crops Prod. 76, 647–652. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.056

Goering, H.K., Van Soest, P.J., 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications), Agriculture Handbook nº 379. US Department of Agriculture, Washington, DC.

González-Mas, M.C., Rambla, J.L., López-Gresa, M.P., Amparo Blázquez, M., Granell, A., 2019. Volatile compounds in citrus essential oils: A comprehensive review. Front. Plant Sci. 10, 1–18. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00012

Goodrich, R.D., Garrett, J.. E., Gast, D.R., Kirick, M.A., Larson, D.A., Meiske, J.. C., 1984. Influence of Monensin on the Performance of Cattle. J. Anim. Sci. 58, 1484–1498.

Grant, R.J., 1997. Interactions among Forages and Nonforage Fiber Sources. J. Dairy Sci. 80, 1438–1446. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76073-9

Jaramillo-López, E., Itza-Ortiz, M.F., Peraza-Mercado, G., Carrera-Chávez, J.M.,

2017. Ruminal acidosis: Strategies for its control. Austral J. Vet. Sci. 49, 139–148. https://doi.org/10.4067/S0719-81322017000300139

Khiaosa-Ard, R., Zebeli, Q., 2013. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. J. Anim. Sci. 91, 1819–1830. https://doi.org/10.2527/jas.2012-5691

Kotsampasi, B., Tsiplakou, E., Christodoulou, C., Mavrommatis, A., Mitsiopoulou, C., Karaiskou, C., Sossidou, E., Fragioudakis, N., Kapsomenos, I., Bampidis, V.A., Christodoulou, V., Zervas, G., 2018. Effects of dietary orange peel essential oil supplementation on milk yield and composition, and blood and milk antioxidant status of dairy ewes. Anim. Feed Sci. Technol. 245, 20–31. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.08.007

Lourenço, M., Falchero, L., Tava, A., Fievez, V., 2009. Alpine vegetation essential oils and their effect on rumen lipid metabolism in vitro, in: Chilliard, Y., Glasser, F., Faulconnier, Y., Bocquier, F., Doreau, M., Veissier, I. (Eds.), Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, and Effects of Nutrition on Reproduction and Welfare. pp. 88–89.

Madruga, M.S., De Araújo, W.O., De Sousa, W.H., Cézar, M.F., Galvão, M.D.S., Cunha, M.D.G.G., 2006. Effect of genotype and sex on chemical composition and fatty acid profile of sheep meat | Efeito do genótipo e do sexo sobre a composição química e o perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros. Rev. Bras. Zootec. 35, 1838–1844. https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000600035

Malau-Aduli, A.E.O., Siebert, B.D., Bottema, C.D.K., Pitchford, W.S., 1997. A comparison of the fatty acid composition of triacylglycerols in adipose tissue from Limousin and Jersey cattle. Aust. J. Agric. Res. 48, 715. https://doi.org/10.1071/A96083

Nehme, R., Andrés, S., Pereira, R.B., Jemaa, M.B., Bouhallab, S., Ceciliani, F., López, S., Rahali, F.Z., Ksouri, R., Pereira, D.M., Abdennebi-Najar, L., 2021. Essential oils in livestock: From health to food quality. Antioxidants 10, 1–42. https://doi.org/10.3390/antiox10020330

NRC, 2007. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids and new world camelids. National Research Council, Washington.

Oliveira, D.M., Chalfun, A., Chizzotti, M.L., Barreto, H.G., Coelho, T.C., Paiva, L. V., Coelho, C.P., Teixeira, P.D., Schoonmaker, J.P., Ladeira, M.M., 2014. Expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with or without monensin supplementation. J. Anim. Sci. 92, 5426–5436. https://doi.org/10.2527/jas2014-7855

Pereira, M.C.S., Dellaqua, J.V.T., Sousa, O.A., Santi, P.F., Felizari, L.D., Reis, B.Q., Pinto, A.C.J., Bertoldi, G.P., Silvestre, A.M., Watanabe, D.H.M., Estevam, D.D., Arrigoni, M.D.B., Millen, D.D., 2020. Feedlot performance, feeding behavior, carcass and rumen morphometrics characteristics of Nellore cattle submitted to strategic diets prior the adaptation period. Livest. Sci. 234, 103985.

https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103985

Polizel, D.M., Martins, A.S., Miszura, A.A., Ferraz Júnior, M.V. de C., Bertoloni, A.V., Oliveira, G.B., Barroso, J.P.R., Ferreira, E.M., Pires, A.V., 2021. Low doses of monensin for lambs fed diets containing high level of ground flint corn. Sci. Agric. 78, 1–8. https://doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0263

Resende-Junior, J.C., Alonso, L.S., Pereira, M.N., Roca, M.G., Duboc, M.V., Oliveira, E.C., Melo, L.Q., 2006. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep. Brazilian J. Vet. Res. Anim. Sci. 43, 526–536.

Russo, G.L., 2009. Dietary n - 6 and n - 3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. Biochem. Pharmacol. 77, 937–946. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.10.020

Samii, S.S., Wallace, N., Nagaraja, T.G., Engstrom, M.A., Miesner, M.D., Armendariz, C.K., Titgemeyer, E.C., 2016. Effects of limonene on ruminal fusobacterium necrophorum concentrations, fermentation, and lysine degradation in cattle. J. Anim. Sci. 94, 3420–3430. https://doi.org/10.2527/jas.2016-0455

Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Tylutki, T.P., 2003. Potential Environmental Benefits of Ionophores in Ruminant Diets. J. Environ. Qual. 32, 1591–1602. https://doi.org/10.2134/jeq2003.1591

Torres, R.N.S., Moura, D.C., Ghedini, C.P., Ezequiel, J.M.B., Almeida, M.T.C., 2020. Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and performance of sheep. Small Rumin. Res. 189, 106148. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106148

Ueno, H., Gonçalves, P.C., 1988. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes, 4th ed. Japan International Cooperation, Tokio.

Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T., 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. Lancet 338, 985–992. https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-M

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2

Weidner, S.J., Grant, R.J., 1994. Soyhulls as a replacement for forage fiber in diets for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 77, 513–21. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)76979-4

Woodford, S.T., Murphy, M.R., 1988. Effect of Forage Physical Form on Chewing Activity, Dry Matter Intake, and Rumen Function of Dairy Cows in Early Lactation. J. Dairy Sci. 71, 674–686. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79606-X

5 EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Arnica montana* SOBRE O CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, FERMENTAÇÃO RUMINAL E RETENÇÃO DE NITROGÊNIO EM CORDEIROS CONFINADOS

Resumo

O óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) é utilizado na medicina humana por seu efeito antimicrobiano. Entretanto, para ruminantes não há relatos da utilização do OEAM como aditivo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de teores de OEAM como aditivo sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, o balanço de nitrogênio e as características de fermentação ruminal em cordeiros confinados. Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Dorper x Santa Inês, com peso médio inicial de 50,56 ± 1,19 kg (média ± desvio padrão) e 14,6 ± 1,28 meses (média ± desvio padrão), castrados e canulados no rúmen. Os cordeiros foram distribuídos em delineamento em quadrado latino 5 x 5. Os tratamentos experimentais foram: **A0** - controle negativo (dieta padrão sem inclusão de aditivo); **A450** - inclusão de 450 mg de OEAM/kg de MS; **A900** - inclusão de 900 mg de OEAM/kg de MS; **A1350** - inclusão de 1350 mg de OEAM/kg de MS; **M25** - controle positivo (dieta contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS). Todas as dietas continham 90% de concentrado e 10% de volumoso (feno de *Coastcross*). Os teores de OEAM não alteraram o consumo de matéria seca (CMS) e dos nutrientes (MO, PB, EE, FDN, FDA, CNF e NDT). Para a comparação entre M25 *vs*. A0, houve menor consumo de MS e dos nutrientes para M25 ($P < 0,05$). Houve maior consumo de MS e de nutrientes quando as dietas continham OEAM em comparação à M25 ($P < 0,05$). Houve aumento linear ($P = 0,03$) na digestibilidade da proteína bruta com os teores crescentes de OEAM. Porém, a digestibilidade dos demais nutrientes não foi afetada pela inclusão de OEAM. Não houve diferença na digestibilidade dos nutrientes na comparação entre M25 *vs*. A0 e as dietas com OEAM *vs*. M25. A inclusão de OEAM nas dietas diminuiu linearmente ($P = 0,03$) o nitrogênio (N) na urina, o que foi associado a diminuição linear ($P = 0,03$) na concentração de amônia no rúmen. Os teores de OEAM aumentaram linearmente a retenção de N (g/kg de N ingerido e g/kg de N absorvido; $P < 0,05$). Na comparação entre as dietas M25 *vs*. A0, houve menor consumo de N e menor excreção de N via urina para M25 ($P < 0,05$). As dietas com OEAM tiveram maior consumo de N e excreção de N na urina em relação à M25 ($P < 0,05$). Houve aumento na retenção de N para as dietas com OEAM quando comparadas à M25 ($P = 0,02$). Os teores de OEAM conferiram efeito quadrático ($P = 0,03$) à proporção molar de acetato, com menor proporção para A450. A concentração total e a proporção molar dos demais ácidos graxos de cadeia curta não foram afetadas pela inclusão de OEAM. A concentração total e a proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta não diferiram entre M25 *vs*. A0, nem entre as dietas contendo OEAM *vs*. M25. O pH ruminal não foi alterado pela inclusão de OEAM nas dietas. Porém, houve efeito quadrático ($P = 0,02$) dos teores de OEAM sobre a área abaixo do pH 5,5, com maior área abaixo de 5,5 para A450. O tratamento M25 conferiu aumento no pH ruminal em relação à A0 ($P < 0,01$), esse resultado contribuiu para menor área abaixo do pH 5,5 e maior área total de pH para M25 ($P < 0,05$). As dietas com OEAM tiveram menor pH ruminal quando comparadas à M25 ($P = 0,01$). Em conclusão, o teor de 1350 mg de

OEAM/kg de MS foi o mais promissor, especialmente para o aumento na eficiência de uso do N dietético em relação à dose de 25 mg de monensina/kg de MS.

Palavras-chave: Aditivo, Limoneno, Metabolismo, Monensina, Ovinos, Rúmen.

Abstract

Arnica montana essential oil (AMEO) is used in human medicine for its antimicrobial effect. However, for ruminants, there are no reports of using AMEO as an additive. The objective of this study was to evaluate the effect of AMEO content as an additive on nutrient intake and digestibility, nitrogen balance, and rumen fermentation characteristics in feedlot lambs. Five Dorper x Santa Inês crossbred lambs, with a mean initial weight of 50.56 ± 1.19 kg (mean ± standard deviation) and 14.6 ± 1.28 months (mean ± standard deviation), castrated and cannulated in the rumen were used. The lambs were distributed in a Latin square design 5 x 5. The experimental treatments were: **A0** - negative control (standard diet without additive inclusion); **A450** - inclusion of 450 mg AMEO/kg DM; **A900** - inclusion of 900 mg AMEO/kg DM; **A1350** - inclusion of 1350 mg AMEO/kg DM; **M25** - positive control (diet containing 25 mg sodium monensin/kg DM). All diets contained 90% concentrate and 10% roughage (Coastcross hay). The levels of AMEO did not alter the intake of dry matter (DMI) and nutrients (OM, CP, EE, NDF, ADF, NFC, and TDN). For the comparison between M25 *vs*. A0, there was a lower intake of DM and nutrients for M25 ($P < 0.05$). There was higher DM and nutrient intake when diets contained AMEO compared to M25 ($P < 0.05$). There was a linear increase ($P = 0.03$) in crude protein digestibility with increasing AMEO contents. However, the digestibility of the other nutrients was not affected by the inclusion of AMEO. There was no difference in nutrient digestibility when comparing M25 *vs*. A0 and the diets with AMEO *vs*. M25. The inclusion of AMEO in the diets linearly decreased ($P = 0.03$) nitrogen (N) in the urine, which was associated with a linear decrease ($P = 0.03$) in ammonia concentration in the rumen. The AMEO contents linearly increased N retention (g/kg ingested N and g/kg absorbed N; $P < 0.05$). When comparing M25 *vs*. A0 diets, there was lower N intake and lower N excretion via urine for M25 ($P < 0.05$). Diets with AMEO had higher N intake and N excretion in urine compared to M25 ($P < 0.05$). There was increased N retention for AMEO diets when compared to M25 ($P = 0.02$). The AMEO contents gave a quadratic effect ($P = 0.03$) to the molar proportion of acetate, with the lowest proportion for A450. The total concentration and molar ratio of the other short-chain fatty acids were not affected by the inclusion of AMEO. The total concentration and molar ratio of short-chain fatty acids did not differ between M25 *vs*. A0, nor between diets containing AMEO *vs*. M25. Rumen pH was not altered by the inclusion of AMEO in the diets. However, there was a quadratic effect ($P = 0.02$) of AMEO content on the area under pH 5.5, with greater area under 5.5 for A450. The M25 treatment conferred an increase in rumen pH compared to A0 ($P < 0.01$), this result contributed to a lower area below pH 5.5 and a greater total pH area for M25 ($P < 0.05$). Diets with AMEO had lower rumen pH when compared to M25 ($P = 0.01$). In conclusion, the 1350 mg AMEO/kg DM content was the most promising, especially for the increase in dietary N use efficiency compared to the 25 mg monensin/kg DM dose.

Keywords: Additive, Limonene, Metabolism, Monensin, Sheep, Rumen.

5.1 Introdução

Os ionóforos são utilizados de longa data na alimentação de ruminantes para melhorar os parâmetros de fermentação ruminal, a digestibilidade dos nutrientes, o desempenho e a eficiência alimentar dos animais (Duffield et al., 2012; Goodrich et al., 1984; Russel; Strobel, 1989). No entanto, por serem considerados antibióticos, sua utilização na alimentação animal tem sido questionada (Abadi et al., 2019), pois, resquícios desses aditivos na carne ou no leite podem contribuir para resistência bacteriana aos antibióticos utilizados na medicina humana (Ben et al., 2019; He et al., 2020). Diante desse cenário, a busca por alternativas que possuam efeitos semelhantes aos ionóforos e sejam seguras ao consumo humano ganharam mais atenção da comunidade científica nos últimos anos. Dentre as diversas possibilidades consideradas naturais, se destacam os óleos essenciais. Esses são constituídos por compostos formados a partir do metabolismo secundário das plantas, os quais são responsáveis pelo odor e sabor característicos de cada espécie (Calsamiglia et al., 2007).

Alguns óleos essenciais podem modular a fermentação ruminal (Calsamiglia et al., 2007; Nehme et al., 2021). Existem relatos de que alguns óleos essenciais podem aumentar a proporção de propionato e reduzir a relação acetato:propionato no rúmen (Benchaar et al., 2007). Essas alterações tornam o rúmen energeticamente mais eficiente e melhora a eficiência de utilização dos nutrientes da dieta, contribuindo para o melhor desempenho (Parvar et al., 2018; Smeti et al., 2018). Os óleos essenciais também podem melhorar a digestibilidade da proteína, reduzir a produção de amônia no rúmen e promover maior retenção de nitrogênio (Benchaar et al., 2008; Newbold et al., 2004). As alterações sobre o metabolismo proteico são bem vistas, pois podem melhorar o aproveitamento da proteína dietética e reduzir o impacto ambiental devido à menor excreção de nitrogênio (Hristov et al., 2019). Apesar dos resultados promissores, é destacado que os efeitos dos óleos essenciais sobre a fermentação ruminal são dependentes da origem do óleo essencial, da composição e da dose utilizada (Calsamiglia et al., 2007; Nehme et al., 2021).

Dentre os diversos óleos essenciais, destaca-se o óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM). O OEAM proveniente das flores é rico em sesquiterpenos, destacando-se o β-cariofileno (Judžentiene; Budiene, 2009). O OEAM obtido da planta inteira, das raízes ou dos rizomas contém maior concentração de monoterpenos (Kriplani et al., 2017), com destaque para o canfeno, felandreno e limoneno (Kriplani et al., 2017; Sugier et al., 2020). O OEAM é amplamente utilizado na medicina humana por possui efeitos comprovados como anti-inflamatório, antioxidante, antisséptico, antibacteriano e antifúngico (Ganzera et al., 2008; Sugier et al., 2017). Então, a hipótese desse trabalho foi que o OEAM iria exercer efeito antimicrobiano semelhante a monensina sódica no rúmen e por consequência poderia modular a fermentação ruminal, aumentar a digestibilidade da proteína e a retenção de nitrogênio.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de teores crescentes de OEAM em dietas ricas em concentrado para cordeiros, sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, o balanço de nitrogênio e as características de fermentação ruminal. A partir dos resultados será possível definir a melhor dose de OEAM, como também comparar os efeitos do OEAM com a monensina sódica.

5.2 Material e métodos

5.2.1 Animais e instalações experimentais

O experimento foi conduzido nas instalações para estudos metabólicos do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP (22° 42′ 24″ S e 47° 37′ 53″ O), Brasil. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/ESALQ), protocolo n.º 5160100220.

Foram utilizados cinco cordeiros castrados, mestiços (Dorper × Santa Inês), com peso médio inicial de 50,56 ± 1,19 kg (média ± desvio padrão) e idade média de 14,6 ± 1,28 meses (média ± desvio padrão), canulados no rúmen. Um mês antes do início do experimento, os animais foram preparados cirurgicamente para colocação das cânulas (Kehl, São Carlos – São Paulo, Brasil). Após a cicatrização, os cordeiros foram alojados individualmente em gaiolas para ensaios de metabolismo com dimensões de 1,30 × 0,55 m, providas de cocho, bebedouro e sistema para colheita

de fezes e urina. As gaiolas foram mantidas em ambiente coberto, ao abrigo da chuva e da luz solar direta.

5.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo alimentar

Os animais foram distribuídos em quadrado latino 5 × 5, sendo cinco tratamentos e cinco períodos experimentais. O experimento teve duração de 105 dias, divididos em cinco períodos de 21 dias, dos quais 15 dias foram destinados à adaptação dos animais às rações experimentais, cinco dias para mensuração do consumo de matéria seca (CMS), colheita de fezes e urina, e um dia para colheita de fluido ruminal.

As dietas experimentais foram isoenergéticas e isonitrogenadas, contendo 90% de concentrado e 10% de volumoso (feno de *Coastcross*), a formulação foi realizada utilizando o "*Small Ruminant Nutrition System*" (SRNS; Cannas et al., 2004; Tabela 14). Os tratamentos experimentais foram: **A0** - controle negativo (dieta padrão sem inclusão de aditivo); **A450** - inclusão de 450 mg de OEAM/kg de MS; **A900** - inclusão de 900 mg de OEAM/kg de MS; **A1350** - inclusão de 1350 mg de OEAM/kg de MS; **M25** - controle positivo (dieta contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS; Rumensin 100, Elanco do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil).

Tabela 14. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais (% da MS).

Item	Tratamentos[1]				
	A0	**A450**	**A900**	**A1350**	**M25**
Ingredientes					
Feno de *Coastcross*	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho moído	73,0	72,9	72,9	72,9	72,9
Farelo de soja	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5
Cloreto de amônio	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Mistura mineral[2]	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
OEAM[3], mg/kg de MS	0	450	900	1350	-
Monensina[4], mg/kg de MS	-	-	-	-	25
Composição química[5]					
Matéria seca	86,5 ± 0,46	86,6 ± 0,23	86,6 ± 0,31	86,6 ± 0,27	86,5 ± 0,39
Matéria orgânica	94,3 ± 0,16	94,2 ± 0,23	94,3 ± 0,28	94,3 ± 0,29	94,2 ± 0,17
Proteína bruta	16,1 ± 0,26	16,0 ± 0,20	16,1 ± 0,31	16,0 ± 0,48	16,0 ± 0,28
Fibra em detergente neutro	19,0 ± 0,62	19,1 ± 0,51	19,2 ± 0,58	19,2 ± 0,56	19,1 ± 0,65
Fibra em detergente ácido	6,3 ± 1,10	6,2 ± 1,10	6,2 ± 1,08	6,2 ± 1,08	6,2 ± 0,98
Extrato etéreo	3,1 ± 0,61	3,2 ± 0,69	3,2 ± 0,64	3,3 ± 0,66	3,2 ± 0,82
CNF	55,5 ± 0,90	55,4 ± 1,09	55,5 ± 1,08	55,4 ± 1,05	55,6 ± 1,07
EM[6], Mcal/kg de MS	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0

[1] A0 (controle negativo) – dieta base, sem adição de aditivo; A450 – adição de 450 mg de OEAM/kg de MS; A900 – adição de 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350 – adição de 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25 (controle positivo) – adição de 25 mg/kg de MS de monensina sódica. [2] Ca: 154 g/kg; P: 85 g/kg; Na: 120 g/kg; Mg: 10 g/kg; S: 35 g/kg; Cu: 756 mg/kg; Mn: 2.180 mg/kg; Zn: 2.800 mg/kg; I: 56 mg/kg; Co: 44 mg/kg; Se: 14 mg/kg; F: 1.000 mg/kg. [3]Óleo essencial de *Arnica montana*: 1,58% de 2-hexanal; 0,91% de mirceno; 61,50% de limoneno; 36,01% de tricaprilato de glicerol (PipingRock Health Products, Ronkonkoma – Nova Iorque, EUA). [4] Rumensin 100 (monensina sódica, Elanco do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil). [5]Considera cinco amostras por tratamento (n = 5). [6]Estimada usando o *Small Ruminant Nutrition System* (Cannas et al., 2004).

5.2.3 Manejo alimentar e colheita de amostras

Amostras das dietas e dos ingredientes foram colhidas a cada batida de ração. A composição química dos ingredientes é descrita na Tabela 15.

Tabela 15. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais (% da MS).

Item[1]	Ingredientes		
	Feno de *Coastcross*	**Milho moído**	**Farelo de soja**
n	5	5	5
Matéria seca	86,7 ± 0,52	86,9 ± 0,46	89,2 ± 0,56
Matéria orgânica	91,0 ± 0,25	98,8 ± 0,12	93,6 ± 0,18
Proteína bruta	18,2 ± 0,32	9,6 ± 0,18	53,5 ± 0,26
Fibra em detergente neutro	75,9 ± 0,82	11,7 ± 0,06	11,4 ± 0,07
Fibra em detergente ácido	30,0 ± 1,12	2,8 ± 0,05	7,0 ± 0,08
Extrato etéreo	1,5 ± 0,15	3,4 ± 0,08	2,6 ± 0,06

[1]n: número de amostras.

O feno de *Coastcross* e o milho foram moídos utilizando triturador (Nogueira DPM – 4, Itapira, São Paulo, Brasil) com peneira com crivos de 10 mm. Todos os ingredientes das dietas A0 e M25 foram misturados utilizando misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato, Limeira, São Paulo, Brasil). Para confecção das dietas A450, A900 e A1350 foi preparado uma pré-mistura (contendo apenas a fração concentrada da dieta) utilizando o mesmo misturador horizontal. As dietas foram oferecidas *ad libitum* diariamente às 7 horas da manhã na forma de ração total. No caso das dietas A450, A900 e A1350, o OEAM foi pesado em balança analítica com acurácia de 0,0001 g (Sartorius BA11OS, Gottingen, Niedersachsen, Alemanha) e misturado à pré-mistura, sendo posteriormente o feno adicionado e homogeneizado à pré-mistura com OEAM. Diariamente, as sobras foram pesadas em balança de eletrônica com precisão de 1 g (Marte, LC 100, São Paulo, São Paulo, Brasil) e a quantidade ofertada foi ajustada com base no consumo do dia anterior, não permitindo que as sobras fossem superiores a 10% da quantidade ofertada.

5.2.4 Digestibilidade aparente dos nutrientes

Nos dias 16, 17, 18, 19 e 20 de cada período experimental, às 7 horas da manhã, as sobras foram pesadas, amostradas (10%) e armazenadas a -18 °C para

posterior análise e determinação do consumo de MS e de nutrientes. Nesses mesmos dias e horário foi quantificada a produção fecal total. A colheita de fezes foi realizada por bolsas coletoras de lona, revestidas internamente com napa. As bolsas foram presas aos animais por meio de arreios. As fezes foram pesadas em balança eletrônica (Marte LC 100, São Paulo, São Paulo, Brasil), amostradas (10%) e armazenadas a -18 °C para posterior análise e cálculo de digestibilidade.

5.2.5 Balanço de nitrogênio

Nos dias 16, 17, 18, 19 e 20 de cada período experimental, às 7 horas da manhã foi realizada a colheita total de urina, utilizando recipiente plástico contendo 50 mL de solução de ácido clorídrico a 50%, a fim de manter o pH abaixo de 3,0 e evitar perdas de nitrogênio. O volume total de urina foi registrado diariamente e uma amostra de 10% do volume total diário foi retida e armazenada a -18 ◦C.

5.2.6 Colheita de fluido ruminal

Amostras do fluido ruminal foram colhidas no dia 21 de cada período experimental. As colheitas foram realizadas em intervalos de quatro horas, sendo a hora zero o momento anterior ao fornecimento das dietas, e 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas após o arraçoamento. O conteúdo ruminal colhido de cada animal foi filtrado em tecido de náilon com 150 µm, e a fração sólida foi devolvida ao rúmen. Em cada colheita foi obtido aproximadamente 200 mL de fluido ruminal filtrado, o qual foi utilizado para a mensuração imediata do pH em pHmetro digital (Digimed DM20, São Paulo, São Paulo, Brasil). Após a determinação do pH, foram retiradas 3 alíquotas de 2,5 mL do fluido ruminal que foram imediatamente armazenadas em frascos plásticos e congeladas a -20 °C. As amostras de fluido ruminal foram utilizadas para determinação da concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$).

5.2.7 Análises laboratoriais e cálculos

Após descongeladas, as amostras dos ingredientes, das dietas ofertadas, das sobras e das fezes foram secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas para determinação da matéria seca à 55 ºC. Posteriormente as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm. Após a moagem, as amostras foram secas em estufa a 105 °C por 24 horas para determinação da matéria seca à 105 °C. A matéria mineral (MM) foi determinada através da incineração das amostras em mufla a 550 °C por 4 horas (AOAC, 1990), subtraindo a MM de 100, obteve-se a matéria orgânica (MO). A concentração de nitrogênio total foi mensurada utilizando um aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, Michigan, EUA; AOAC (1997). A proteína bruta (PB) foi calculada multiplicando a concentração de N total por 6,25. A determinação da fração fibrosa foi realizada pelo método sequencial, utilizando α-amilase termoestável e sulfito de sódio para determinação da fibra em detergente neutro (FDN; Van Soest et al., 1991), e a fibra em detergente ácido (FDA; Goering; Van Soest, 1970), utilizando um aparelho Ankom A2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, Nova Iorque, EUA). O teor de extrato etéreo foi determinado utilizando um aparelho extrator Ankom XT15 (Ankom Tech Corp., Macedon, Nova Iorque, EUA). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados conforme a equação:

CNF (%) = 100% - (%FDN + %PB + %EE + %MM)

O NDT foi calculado por meio da equação:

NDT (%) = $\%PB_{dig.} + (\%EE_{dig.} \times 2{,}25) + \%FDN_{dig.} + CNF_{dig.}$

Para determinação dos AGCC; 1,6 mL de fluido ruminal adicionado com 0,4 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico (25%) com ácido fórmico (98 – 100%) e 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno) foram centrifugados a 15.000g (Sorvall Superspeed RC2-B, Newton, Connecticut, EUA) por 15 min a 4 °C. Após a centrifugação 1,2 mL de cada amostra foi transferida para *vials* cromatográficos. Do extrato obtido foi injetado 1 µL em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies, Santa Clara, Califórnia, EUA) equipado com coluna capilar HP-FFAP (19091F-112; 25 m; 0,320 mm; 0,50 µm; J & W Agilent Technologies, Santa Clara, Califórnia, EUA). A injeção foi realizada de maneira automática, o gás de arraste foi o H_2, mantido em um fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e do detector foi de 260 °C. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 16,5 min dividido em três rampas de aquecimento, como segue: 80 °C (1 min), 120 °C (20 °C/min; 3 min), 205 °C (10 °C/min; 2 min). A concentração

dos AGCC (mM) foi determinada com base em uma curva de calibração externa. Para análise estatística, os dados foram transformados para proporção molar (mM/100mM), ou seja, a relação entre a quantia de um determinado AGCC e o total observado.

A área total de pH sob a curva e a área abaixo do pH 5,5 foram calculadas conforme descrito por Maulfair et al. (2013).

A concentração de N-NH_3 foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Chaney et al. (1962), adaptado para leitura em leitor de microplacas (BIO – RAD, Hercules, Califórnia, EUA), utilizando-se filtro para absorbância de 550 nm.

5.2.8 Caracterização dos compostos presentes no óleo essencial

A caracterização do óleo essencial de *Arnica montana* (PipingRock Health Products, Ronkonkoma, Nova Iorque, EUA) foi realizada no Laboratório de Óleos e Gorduras do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN/ESALQ) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil. A composição do óleo essencial de *Arnica montana* é descrita na Tabela 16.

Tabela 16. Composição do óleo essencial de *Arnica montana*.

Composto[1]	**%**
D-limoneno	61,50
Tricaprilato de glicerol	36,01
2-Hexanal	1,58
Mirceno	0,91

[1]Quantidade relativa dos compostos identificados com base na área de cada pico no cromatograma.

O óleo essencial utilizado foi obtido por extração com CO_2. Dessa forma, para obtenção apenas dos compostos voláteis, 1 mL de óleo foi adicionado em *vial* de 20 mL, o qual foi fechado hermeticamente com tampa de rosca com septo de politetrafluoretileno/silicone e mantido por 30 min em banho-maria a 40 °C. Após esse processo para atingir o equilíbrio na concentração de voláteis entre o *headspace* e a amostra foi aguardado 5 minutos e foi posteriormente realizada a inserção manual de fibra com polímeros de divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS, 50/30 µm; Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA) anexada a um suporte para micro extração de fase sólida furando o septo da tampa do *vial* e expondo a fibra em 2 cm no *headspace* no interior do *vial* por 10 min para adsorção dos voláteis.

A amostra obtida foi injetada manualmente da fibra para o equipamento de leitura com 3 min para dessorção dos compostos voláteis.

A identificação dos compostos voláteis foi realizada em cromatografia gasosa/espectrometria de massa (HS-GC/MS) em um GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu Corp., Tóquio, Japão). Foi utilizado uma coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; metil silicone 5% como fase estacionária; Bellefonte, PA). O gás de arraste utilizado foi o hélio no fluxo de 1,0 mL/min. O espectro de massa foi adquirido via ionização a 70 eV na faixa de 40 a 500 *m/z*. Amostras de 1 µL foram injetadas em modo split. A temperatura do injetor e detector foi de 220 a 230 ºC. A rampa de temperatura começou em 50 °C e mantida por 1,5 min, seguida de 200 °C a 4 °C/min e 240 °C a 10 °C/min, mantida por 7 min. Para identificação dos compostos voláteis, os dados (tempo de retenção e área no TIC) foram processados usando o software GCMS Solution (versão 4.20) (Shimadzu, Tóquio, Japão). A identificação foi feita por similaridade com dados da biblioteca (WILEY8.LIB e FFNSC1.3.lib) e por cálculo do índice de retenção linear (LRI) por corrida de série de alcanos C7-C30 (Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA).

5.2.9 Análise estatística

Os dados de características de fermentação ruminal foram analisados como medidas repetidas no tempo usando o procedimento MIXED do SAS (1999). Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos resíduos e remoção de outliers. A homogeneidade das variâncias foi verificada pelo teste de Levene. O modelo estatístico para as medidas repetidas foi: $Y = \mu + A_i + T_j + e_{ij} + K + T_j \times K + P_l + e_{ijkl}$, em que μ = média, A_i = efeito de animal (i = 1 a 5), T_j = efeito de tratamento (j = 1 a 5), e_{ij} = erro residual A, K = efeito de horas após a alimentação, $T_j \times K$ = efeito de interação entre tratamentos e horas após a alimentação, P_l = efeito de período (l = 1 a 5) e e_{ijkl} = erro residual B. Para os dados de consumo e digestibilidade dos nutrientes, e balanço de nitrogênio foi utilizado o seguinte modelo: $Y = \mu + A_i + T_j + e_{ij} + P_l + e_{ijl}$, em que: μ = média geral, A_i = efeito de animal (i = 1 a 5), T_j = efeito de tratamento (j = 1 a 5), e_{ij} = erro residual A, P_l = efeito de período (l = 1 a 5) e_{ijl} = erro residual B. A matriz de covariância que melhor se ajustou aos conjuntos de dados foi a simétrica composta (CS). As médias de cada tratamento foram obtidas utilizando o comando LSMEANS. Os efeitos dos teores de inclusão do OEAM (A0,

A450, A900 e A1350) nas dietas foram avaliados por meio de contrastes ortogonais, linear (L) e quadrático (Q). Para comparar o efeito dos tratamentos foram realizados dois contrastes: 1 – dieta com monensina (controle positivo) *vs.* dieta sem aditivo (controle negativo) (M25 *vs.* A0) e 2 –dietas com OEAM *vs*. dieta com monensina (OEAM *vs.* M25). Os efeitos dos períodos e da interação entre os tratamentos e os períodos foram definidos pelo teste F da análise de variância (ANOVA). Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,05$.

5.3 Resultados

5.3.1 Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

Os resultados de consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes são apresentados na Tabela 17. Os teores crescentes de OEAM não alteraram o consumo dos nutrientes. Contudo, na comparação por meio dos contrastes, o tratamento M25 diminuiu o consumo de MS ($P < 0,001$), MO ($P < 0,001$), PB ($P < 0,001$), FDN ($P < 0,01$), FDA ($P = 0,02$), CNF ($P < 0,001$) e NDT ($P < 0,001$) quando comparado ao tratamento A0 (controle negativo; Tabela 11). Para esse mesmo contraste não houve diferença no consumo de EE. Na comparação entre as dietas com OEAM e M25, houve menor consumo de MS ($P < 0,001$), MO ($P < 0,0001$), PB ($P < 0,0001$), EE ($P = 0,03$), FDN ($P < 0,001$), FDA ($P = 0,02$), CNF ($P < 0,0001$) e NDT ($P < 0,0001$) para o tratamento M25.

O aumento nos teores de OEAM na dieta conferir aumento linear ($P = 0,03$) na digestibilidade aparente da PB. Entretanto, não houve efeito dos teores de OEAM na digestibilidade dos demais nutrientes. Nos contrastes M25 *vs.* A0 e OEAM *vs.* M25, não houve diferença na digestibilidade aparente dos nutrientes.

Tabela 17. Consumo e digestibilidade aparente de nutrientes por cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) ou monensina sódica.

Itens[4]	Tratamentos[1]					EPM[2]	*P-valor*[3]			
	A0	A450	A900	A1350	M25		L	Q	M25 *vs.* A0	OEAM *vs.* M25
Consumo (g/dia)										
MS	1297	1412	1286	125	94	54,3	0,30	0,22	<0,001	<0,001
MO	1244	1344	1230	1204	907	49,1	0,31	0,25	<0,001	<0,0001
PB	215	235	211	207	155	10,7	0,26	0,21	<0,001	<0,0001
EE	40	43	38	40	33	2,4	0,68	0,88	0,07	0,03
FDN	255	273	250	242	196	10,5	0,21	0,26	<0,01	<0,001
FDA	79	80	73	75	64	3,7	0,32	0,94	0,02	0,02
CNF	734	789	725	716	523	30,1	0,38	0,31	<0,001	<0,0001
NDT	1036	1181	1081	1055	782	45,9	0,37	0,21	<0,001	<0,0001
Coeficiente de digestibilidade (%)										
MS	81,8	82,7	83,0	82,9	84,4	0,98	0,41	0,62	0,12	0,28
MO	84,5	85,4	85,8	86,0	87,4	0,94	0,25	0,71	0,07	0,22
PB	77,9	79,1	81,9	82,0	81,6	1,36	0,03	0,67	0,08	0,72
EE	56,0	55,8	64,6	63,8	56,9	6,64	0,30	0,96	0,92	0,57
FDN	62,2	64,6	65,1	64,1	65,9	4,00	0,66	0,59	0,44	0,74
FDA	43,5	51,8	54,5	51,5	56,9	5,58	0,19	0,21	0,07	0,20
CNF	97,9	97,6	97,6	97,1	97,9	0,41	0,19	0,94	0,86	0,39
NDT	83,6	84,0	84,6	84,7	83,9	1,07	0,42	0,88	0,82	0,68

[1]A0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); A450: adição de 450 mg de OEAM/kg de MS; A900: adição de 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350: adição de 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs*. A0: dieta com monensina (controle positivo) *vs.* dieta sem aditivo (controle negativo); OEAM *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de *Arnica montana vs*. dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo). [4]MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; CNF: carboidrato não fibroso; NDT: nutrientes digestíveis totais.

5.3.2 Balanço de Nitrogênio

Os resultados do balanço de nitrogênio são apresentados na Tabela 18. Os teores crescentes de OEAM não influenciaram o consumo de N, a excreção de N nas fezes, a quantidade de N absorvido e N retido (g/dia e g/kg de N consumido), mas reduziram linearmente a excreção de N pela urina (P = 0,03) e aumentaram linearmente (P < 0,05) o N retido (g/kg de N consumido e g/kg de N absorvido). Na comparação entre M25 e A0, o tratamento M25 teve menor (P < 0,05) consumo de N, excreção de N na urina e quantidade de N absorvido (g/dia e g/kg de N consumido). Entretanto, nessa mesma comparação não foi observado diferença na quantidade de N nas fezes e de N retido (g/dia, g/kg de N consumido e g/kg de N absorvido). Quando as dietas com OEAM foram comparadas à M25, foi observado redução (P < 0,05) no consumo de N, na excreção de N na urina, na quantidade de N absorvido (g/dia e g/kg de N consumido) e no N retido (g/dia, g/kg de N consumido e g/kg de N absorvido) para o tratamento M25.

Tabela 18. Balanço de nitrogênio em cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) ou monensina sódica.

Itens[4]	**Tratamentos**[1]					**EPM**[2]	***P-valor***[3]			
	A0	**A450**	**A900**	**A1350**	**M25**		**L**	**Q**	**M25 *vs.* A0**	**OEAM *vs.* M25**
N consumido (g/dia)	34,4	37,7	33,8	33,1	24,7	1,72	0,26	0,21	<0,001	<0,0001
N fecal (g/dia)	5,9	5,8	5,9	5,7	6,1	0,21	0,69	0,75	0,50	0,31
N urina (g/dia)	23,6	22,9	19,9	17,8	15,3	1,96	0,03	0,71	<0,01	0,05
N absorvido										
g/dia	28,5	31,8	27,9	27,4	18,6	1,40	0,25	0,20	<0,001	<0,0001
g/kg de N consumido	822,2	819,3	807,0	820,6	721,5	21,88	0,86	0,71	<0,01	<0,01
N retido										
g/dia	4,9	8,9	7,9	9,6	3,3	1,82	0,13	0,53	0,55	0,02
g/kg de N consumido	135,5	234,5	212,3	286,9	128,2	43,67	0,04	0,79	0,90	0,04
g/kg de N absorvido	163,8	277,7	261,5	350,9	176,7	53,72	0,04	0,82	0,86	0,07

[1]A0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); A450: adição de 450 mg de OEAM/kg de MS; A900: adição de 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350: adição de 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs*. A0: dieta com monensina (controle positivo) *vs.* dieta sem aditivo (controle negativo); OEAM *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de *Arnica montana vs*. dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo). [4]N: nitrogênio.

5.3.3 Características de fermentação ruminal

Os resultados das características de fermentação ruminal são apresentados na Tabela 19. O aumento nos teores de OEAM conferiu efeito quadrático (*P* = 0,03) na proporção molar de acetato, com menor concentração para o tratamento A450. A proporção molar dos demais AGCC (propionato, butirato, isobutirato, valerato e isovalerato), a relação acetato:propionato (A:P) e a concentração total de AGCC não diferiram entre os teores de OEAM. A concentração total de AGCC, a proporção molar dos AGCC e a relação A:P não diferiram nos contrastes entre M25 *vs.* A0 e as dietas contendo OEAM *vs.* M25.

O pH ruminal e a área total abaixo da curva não diferiram entre as dietas contendo OEAM. No entanto, houve efeito quadrático (*P* = 0,02) para a área abaixo do pH 5,5, com maior área abaixo de 5,5 quando os cordeiros receberam o tratamento A450. O tratamento M25 teve maior pH ruminal (*P* < 0,01), menor área abaixo do pH 5,5 (*P* < 0,01) e maior área total abaixo da curva (*P* = 0,01) em relação ao tratamento A0. Por sua vez, o tratamento M25 teve maior pH quando comparado as dietas com OEAM (*P* < 0,01). Nessa mesma comparação, a área abaixo do pH 5,5 não diferiu, mas a área total abaixo da curva foi maior para M25 (*P* = 0,02).

Para concentração de N-NH_3 ruminal houve efeito dos tratamentos (*P* < 0,01), de hora (*P* < 0,0001) após a alimentação e de interação entre os tratamentos e as horas após a alimentação (*P* = 0,03). Com o desdobramento da interação, observou-se que os animais que receberam as dietas A450, A900 e A1350 apresentaram menor concentração N-NH_3 ruminal em relação aos que receberam as dietas A0 e M25 nas horas 4, 8 e 12 (*P* = 0,03; Figura 3). Nas horas 16, 20 e 24 após alimentação, a concentração de N-NH_3 não diferiu entre os tratamentos. Em termos gerais, a concentração de N-NH_3 ruminal diminuiu linearmente (*P* = 0,03) com os teores crescentes de OEAM nas dietas. Na comparação entre M25 *vs.* A0, não houve diferença para a concentração de N-NH_3 ruminal. Porém, os animais alimentados com as dietas contendo OEAM apresentaram menor (*P* < 0,03) concentração de N-NH_3 ruminal em relação aos da dieta M25.

Tabela 19. Parâmetros de fermentação ruminal de cordeiros recebendo dietas contendo teores crescentes de óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) ou monensina sódica.

Itens[4]	Tratamentos[1]					EPM[2]	*P-valor*[3]					
	A0	A450	A900	A1350	M25		L	Q	M25 *vs.* A0	OEAM *vs.* M25	H	T × H
AGCC total (mM)	60,9	54,8	54,9	55,1	55,5	4,29	0,36	0,45	0,90	0,34	<0,0001	0,95
AGCC (mM/100 mM)												
Acetato	50,3	41,7	48,1	51,0	50,5	2,28	0,41	0,03	0,20	0,94	<0,001	0,51
Propionato	36,7	45,6	39,9	37,6	37,3	2,62	0,80	0,06	0,24	0,88	<0,0001	0,74
Butirato	8,1	7,2	7,5	7,3	7,0	0,83	0,61	0,65	0,76	0,38	0,08	0,19
Isobutirato	0,72	0,72	0,51	0,58	0,75	0,112	0,24	0,73	0,29	0,88	<0,0001	0,50
Valerato	2,66	2,86	2,26	2,10	2,12	0,369	0,19	0,64	0,52	0,32	0,04	0,16
Isovalerato	1,55	1,26	1,15	1,30	1,95	0,288	0,52	0,45	0,06	0,36	<0,0001	0,28
A:P	1,51	0,92	1,35	1,45	1,55	0,192	0,79	0,10	0,19	0,89	<0,0001	0,49
pH	5,51	5,52	5,48	5,59	5,68	0,048	0,24	0,22	<0,01	0,01	<0,0001	0,36
pH área < 5,5 (uni. pH × h/d)	75,2	97,5	88,1	68,6	52,9	7,69	0,41	0,02	<0,01	0,06	-	-
pH área total (uni. pH × h/d)	130,1	129,9	129,2	132,4	134,1	1,15	0,22	0,14	0,01	0,02	-	-
$N\text{-}NH_3$ (mg/dL)	16,0	14,6	13,6	13,2	15,5	0,69	<0,01	0,45	0,61	0,03	<0,0001	0,03

[1]A0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); A450: adição de 450 mg de OEAM/kg de MS; A900: adição de 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350: adição de 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs*. A0: dieta com monensina (controle positivo) *vs.* dieta sem aditivo (controle negativo); OEAM *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de *Arnica montana vs*. dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo); H: efeito de hora; T × H: efeito entre tratamento e hora. [4] AGCC: ácido graxo de cadeia curta; A:P: relação acetato:propionato; $N\text{-}NH_3$: amônia ruminal.

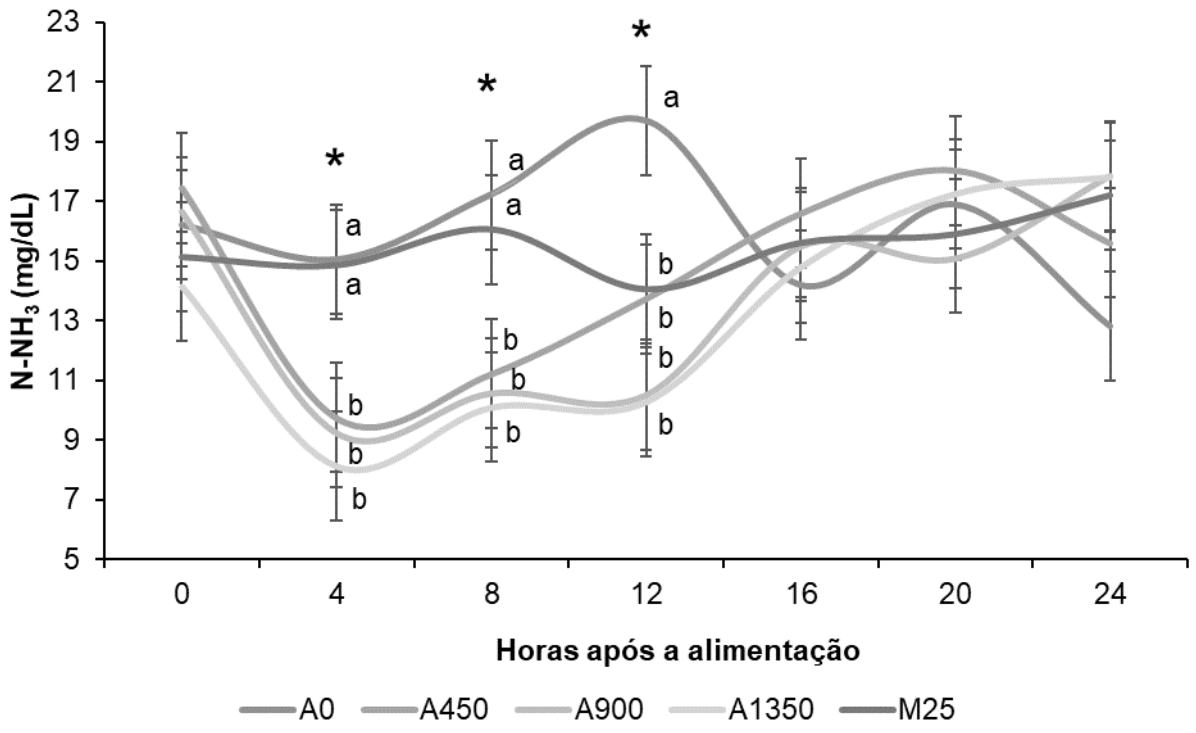

Figura 3. Variação da concentração de amônia ruminal (N-NH_3) após a alimentação de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) ou monensina sódica. A0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); A450: 450 mg de OEAM/kg de MS; A900: 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350: 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25: 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). * Letras diferentes para a mesma hora de colheita diferem pelo teste de Tukey a 5%. EPM = 0,69.

5.4 Discussão

5.4.1 Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes

A pouca influência do OEAM nas características de fermentação ruminal (Tabela 19) e a ausência de efeito sobre a digestibilidade da MS (Tabela 17) justificam a similaridade no CMS entre as dietas contendo OEAM (Tabela 17). O OEAM utilizado no presente estudo continha majoritariamente D-limoneno (61,50%). Esse composto é encontrado em grandes proporções no óleo essencial de laranja. Contudo, os resultados do presente experimento não corroboram com os observados por Kotsampasi et al. (2018), que ao fornecerem dietas contendo 0, 133, 266 e 399 mg de óleo essencial de laranja/kg de MS de concentrado como fonte de D-limoneno para ovelhas em lactação observaram resposta quadrático sobre o CMS, com maior CMS

para o teor de 266 mg. A diferença nas respostas entre os experimentos pode ser explicada pela diferença na composição dos óleos essenciais utilizados em cada experimento. A categoria animal e a composição das dietas utilizadas também podem ter influenciado, tendo em vista que os animais avaliados por Kotsampasi et al. (2018), além de serem adultos, receberam dietas com 43% de volumoso, 76% a mais que o teor de volumoso do presente estudo.

Com relação à diminuição no CMS dos animais que receberam a dieta M25 na comparação com os que receberam a dieta sem aditivo (A0) ou as dietas com OEAM, os resultados do presente experimento reafirmam o que foi observado por Polizel et al. (2021), que demonstraram que a dose de 24 mg/kg de MS de monensina sódica foi excessiva para cordeiros, tendo em vista que diminuiu o CMS e o GMD. Os melhores resultados de modulação da fermentação ruminal e de desempenho obtidos pelos autores citados anteriormente foram com a inclusão de 8 mg/kg de MS. Provavelmente, a baixa palatabilidade da monensina seja o fator responsável pelo efeito negativo no CMS de cordeiros quando os teores de inclusão são elevados. Esse efeito da monensina sobre a palatabilidade já foi destacado para bovinos (Moseley et al., 1977). A ideia de que a palatabilidade da monensina comprometeu o CMS é coerente com o fato de que no trabalho de Polizel et al. (2021), a modulação da fermentação ruminal foi similar nos teores de 8, 16 e 24 mg/kg de MS de monensina, então, supõe-se que os ganhos energéticos para o animal a partir dos AGCC foi similar entre os teores avaliados, restando a palatabilidade como maior responsável pela diminuição no CMS. O maior consumo de nutrientes para os animais que receberam as dietas com OEAM em relação à M25 foi devido exclusivamente ao maior CMS.

Acredita-se que o sítio de digestão da PB foi possivelmente modificado do rúmen para o intestino, o que pode ser justificado pela redução linear na concentração de N-NH_3 no rúmen (Tabela 19) e aumento linear na digestibilidade aparente da PB no trato digestivo total (Tabela 17). A adição de óleo essencial como aditivo na alimentação de ruminantes é destacada por aumentar o fluxo de PB para o intestino e melhorar a eficiência de utilização da proteína dietética (Newbold et al., 2004). É importante destacar que alguns óleos essenciais estão relacionados ao aumento na digestibilidade dos nutrientes no intestino de ruminantes (Lin et al., 2013; Torres et al., 2020). Considerando os principais compostos do OEAM, D-limoneno (61,50%) e tricaprilato de glicerol (36,01%), a literatura apresenta subsídios para inferência de que provavelmente esses compostos contribuíram para o aumento na digestibilidade

da PB quando o OEAM foi adicionado a dieta. A suplementação com D-limoneno, foi relacionada em aumentar a expressão dos genes responsáveis pela secreção de muco e dos transportadores de di e tri peptídeos no intestino de peixes (Aanyu et al., 2018). Por sua vez, o tricaprilato de glicerol, foi relacionado ao aumento na secreção de colecistocinina em aves (Mabayo et al., 1992). A colecistocinina estimular a contração da vesícula biliar e a secreção de enzimas pancreáticas, contribuindo para melhor digestão dos nutrientes no intestino (Wiener et al., 1981). No presente trabalho, os fatores específicos relacionados à digestibilidade intestinal não foram avaliados. Dessa forma, a partir dos resultados do presente estudo fica evidente a necessidade de mais estudos para investigar os efeitos do OEAM sobre a digestibilidade da PB no rúmen e no intestino. Vale destacar também que a literatura é escassa sobre os efeitos dos óleos essenciais sobre a digestibilidade intestinal em animais ruminantes, enquanto para outras espécies esse conhecimento se encontra mais avançado. Os resultados do presente estudo indicam que mesmo que a digestibilidade da PB tenha reduzido no rúmen, não houve comprometimento do crescimento microbiano, essa hipótese é sustentada pela ausência de efeito dos teores de OEAM no CMS e na digestibilidade da MS, MO, FDN, FDA, CNF e NDT.

5.4.2 Balanço de nitrogênio

A diminuição linear na concentração de N-NH_3 ruminal e como consequência a diminuição de N excretado na urina com o aumento nos teores de OEAM nas dietas indica provável efeito inibidor do OEAM sobre as bactérias proteolíticas no rúmen. Vale destacar que existem relatos sobre os efeitos dos óleos essenciais na inibição de bactérias responsáveis pela desaminação de aminoácidos no rúmen (Benchaar et al., 2008; Torres et al., 2021), com consequente diminuição na produção de N-NH_3 ruminal (Calsamiglia et al., 2007; Nehme et al., 2021). Wallace et al. (2002) observaram que as bactérias hiperprodutoras de N-NH_3, *Clostridium sticklandii* e *Peptostreptococcus anaerobius* foram sensíveis à presença de uma mistura de compostos secundários (timol, eugenol, valina e limoneno). No presente estudo, provavelmente o D-limoneno juntamente com o tricaprilato de glicerol exerceram, em alguma medida, efeito inibidor sobre este grupo de bactérias.

A maior retenção de N promovida pelo aumento nos teores de OEAM pode ser explicada pela diminuição na concentração ruminal de N-NH_3 e aumento na

digestibilidade da proteína, o que torna possível sugerir o OEAM como aditivo capaz de diminuir os teores de PB nas dietas para cordeiros, fator importante quando se busca produzir de forma sustentável (Hristov et al., 2019).

O menor consumo de N no tratamento M25 em relação aos tratamentos com OEAM foi devido o menor consumo de MS e PB (Tabela 17). Por sua vez a redução no consumo de N por M25 justifica a menor excreção de N na urina quando comparado as dietas com OEAM. Similarmente, o menor consumo de N pelos cordeiros que receberam a dieta M25 explica a menor excreção urinária de N em relação à dieta A0. É bem conhecido que o consumo de N está intimamente associado à quantidade de N excretado na urina (Van Soest, 1994). As diferenças observadas no consumo de N entre os tratamentos justificam a maior quantidade de N absorvido nas dietas com OEAM em relação à M25, e a menor quantidade de N absorvido pelos cordeiros alimentados com a dieta M25 comparada à dieta A0.

5.4.3 Características de fermentação ruminal

O CMS exerce grande influência na concentração de propionato e acetato no rúmen (Dijkstra et al., 2012). No presente experimento, embora sem efeito significativo os cordeiros alimentados com a dieta A450 apresentaram maior CMS (P = 0,22; Tabela 11) que os da dieta A900 e A1350, o que parcialmente pode justificar a maior concentração ruminal de propionato para os animais da dieta A450. Ficou evidente o efeito modulador da dose de 450 mg/kg de MS do OEAM, uma vez que nesta dosagem a concentração ruminal de acetato também foi inferior.

Apesar da ausência de efeito do OEAM no pH ruminal. O efeito quadrático dos teores de OEAM na área abaixo do pH 5,5 permite inferir que o tratamento A1350 contribuiu para que o pH ruminal permanecesse menor tempo abaixo de 5,5, enquanto o tratamento A450 permaneceu maior tempo abaixo do pH de 5,5.

O pH ruminal foi maior para o tratamento M25 quando comparado ao tratamento A0 e as dietas contendo OEAM, esse efeito pode ser atribuído ao menos CMS pelos cordeiros que receberam M25 (Tabela 17). Adicionalmente, a monensina tem efeito comprovado sobre as bactérias *Streptococus bovis*, as quais são responsáveis pela produção de ácido lático, o principal ácido orgânico responsável pela redução do pH ruminal (Nagaraja et al., 1982). A monensina também pode regular o tamanho e o número de refeições, contribuindo para um padrão de fermentação

mais estável (Goodrich et al., 1984). A elevação do pH ruminal dos animais do tratamento M25 justifica o menor tempo em que o pH se manteve abaixo de 5,5, como também a maior área total sob a curva em relação aos demais tratamentos.

A interação entre tratamento e hora demonstrou que o OEAM conseguiu modular a concentração de N-NH_3 no rúmen. Nas horas 4, 8 e 12 após a alimentação os tratamentos A450, A900 e A1350 reduziram significativamente a concentração de N-NH_3 (Figura 3). No entanto, o tratamento A1350 foi mais eficiente em reduzir a concentração de N-NH_3 (Tabela 19). Patra (2011) destacou que a inclusão de óleos essenciais na dieta pode reduzir a concentração de N-NH_3 no rúmen. Os mesmos autores observaram que esse efeito está associado à redução na população de bactérias hiperprodutoras de N-NH_3, as quais são responsáveis por desaminar aminoácidos. Contudo, o efeito dos óleos essenciais sobre as bactérias hiperprodutoras de N-NH_3 é dependente do teor utilizado (Patra, 2011; Simitzis, 2017). Tem sido observado que baixos teores de óleo essencial agem seletivamente; enquanto, altos teores atuam amplamente sobre a microbiota ruminal (Kholif; Olafadehan, 2021). Óleos essenciais são relacionados à redução da degradação proteica (Macheboeuf et al., 2008; Torres et al., 2021), redução da população de protozoários (Khorrami et al., 2015; Newbold et al., 2015) e menor degradação de aminoácidos (McIntosh et al., 2003). Esses efeitos também são relacionados ao decréscimo na concentração de N-NH_3 ruminal.

A diferença observada na concentração de N-NH_3 ruminal entre as dietas contendo OEAM e M25 pode ser explicada pela maior ação do OEAM nas enzimas proteolíticas no rúmen em relação à M25. Torres et al. (2021) destacaram que a substituição de monensina por óleo essencial na dieta de ruminantes diminuiu a concentração de N-NH_3 ruminal em 5,4%. No presente trabalho, foi observado uma redução de 12,7% na produção de N-NH_3 para as dietas contendo OEAM em relação a M25, corroborando a hipótese de que os óleos essenciais podem ser mais eficientes que a monensina em modular a produção de N-NH_3 no rúmen e aumentar o aproveitamento da proteína dietética.

5.5 Conclusão

A utilização de OEAM pode ser uma alternativa para aumentar a eficiência do uso do N dietético, uma vez que diminuiu a concentração de N-NH_3 ruminal, aumentou

a digestibilidade da PB e a retenção de N. Os resultados obtidos para inclusão de OEAM na dieta indicam a possibilidade de diminuir o teor de proteína na dieta. Contudo, experimentos para avaliar os efeitos do OEAM no desempenho animal são necessários para uma melhor recomendação a este respeito. Quanto aos teores de inclusão de OEAM nas dietas, a dose de 1350 mg/kg de MS foi a que se mostrou mais efetiva. Tendo em vista os bons resultados do OEAM quando comparado a monensina sódica, com base nos resultados deste experimento, é possível indicar grande potencial do OEAM para substituir a monensina sódica em dietas ricas em concentrado para cordeiros. Porém, vale destacar que embora não tenha sido notado nenhum indício de acidose nos animais deste experimento, o OEAM não foi capaz de manter o pH ruminal com a mesma eficiência que a monensina sódica. Recomenda-se a condução de mais estudos para investigar os efeitos do OEAM sobre as diferentes comunidades de microrganismos do rúmen e a digestibilidade da fração proteica no rúmen e nos intestinos, bem como estudos que associem o OEAM com outros óleos essenciais ou até mesmo com ionóforos.

REFERÊNCIAS

Aanyu, M., Betancor, M.B., Monroig, O., 2018. Effects of dietary limonene and thymol on the growth and nutritional physiology of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Aquaculture 488, 217–226. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.01.036

Abadi, A.T.B., Rizvanov, A.A., Haertlé, T., Blatt, N.L., 2019. World Health Organization Report: Current Crisis of Antibiotic Resistance. Bionanoscience 9, 778–788. https://doi.org/10.1007/s12668-019-00658-4

AOAC, 1997. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. Gaithersburg.

AOAC, 1990. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis, 15th ed. Arlington.

Ben, Y., Fu, C., Hu, M., Liu, L., Wong, M.H., Zheng, C., 2019. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. Environ. Res. 169, 483–493. https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.040

Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 209–228. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014

Benchaar, C., Petit, H.V., Berthiaume, R., Ouellet, D.R., Chiquette, J., Chouinard, P.Y., 2007. 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. J. Dairy Sci. 90, 886–897. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(07)71572-2

Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A., 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. J. Dairy Sci. 90, 2580–2595. https://doi.org/10.3168/jds.2006-644

Cannas, A., Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Pell, A.N., Van Soest, P.J., 2004. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. J. Anim. Sci. 82, 149–169.

Chaney, A.L., Marbach, E.P., 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clin. Chem. 8, 130–2.

Dijkstra, J., Ellis, J.L., Kebreab, E., Strathe, A.B., López, S., France, J., Bannink, A., 2012. Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. Anim. Feed Sci. Technol. 172, 22–33. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.005

Duffield, T.F., Merrill, J.K., Bagg, R.N., 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. J. Anim. Sci. 90, 4583–4592. https://doi.org/10.2527/jas.2011-5018

Ganzera, M., Egger, C., Zidorn, C., Stuppner, H., 2008. Quantitative analysis of flavonoids and phenolic acids in Arnica montana L. by micellar electrokinetic capillary chromatography. Anal. Chim. Acta 614, 196–200. https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.03.023

Goering, H.K., Van Soest, P.J., 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications), Agriculture Handbook nº 379. US Department of Agriculture, Washington, DC.

Goodrich, R.D., Garrett, J.. E., Gast, D.R., Kirick, M.A., Larson, D.A., Meiske, J.. C., 1984. Influence of Monensin on the Performance of Cattle. J. Anim. Sci. 58, 1484–1498.

He, Y., Yuan, Q., Mathieu, J., Stadler, L., Senehi, N., Sun, R., Alvarez, P.J.J., 2020. Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment. npj Clean Water 3, 1–11. https://doi.org/10.1038/s41545-020-0051-0

Hristov, A.N., Bannink, A., Crompton, L.A., Huhtanen, P., Kreuzer, M., McGee, M., Nozière, P., Reynolds, C.K., Bayat, A.R., Yáñez-Ruiz, D.R., Dijkstra, J., Kebreab, E., Schwarm, A., Shingfield, K.J., Yu, Z., 2019. Invited review: Nitrogen in ruminant nutrition: A review of measurement techniques. J. Dairy Sci. 102, 5811–5852. https://doi.org/10.3168/jds.2018-15829

Judžentiene, A., Budiene, J., 2009. Analysis of the chemical composition of fower essential oils from Arnica montana of Lithuanian origin. Chemija 20, 190–194.

Kholif, A.E., Olafadehan, O.A., 2021. Essential oils and phytogenic feed additives in ruminant diet: chemistry, ruminal microbiota and fermentation, feed utilization and productive performance. Phytochem. Rev. 20, 1087–1108. https://doi.org/10.1007/s11101-021-09739-3

Khorrami, B., Vakili, A.R., Mesgaran, M.D., Klevenhusen, F., 2015. Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems. Anim. Feed Sci. Technol. 200, 8–16. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.11.009

Kotsampasi, B., Tsiplakou, E., Christodoulou, C., Mavrommatis, A., Mitsiopoulou, C., Karaiskou, C., Sossidou, E., Fragioudakis, N., Kapsomenos, I., Bampidis, V.A., Christodoulou, V., Zervas, G., 2018. Effects of dietary orange peel essential oil supplementation on milk yield and composition, and blood and milk antioxidant status of dairy ewes. Anim. Feed Sci. Technol. 245, 20–31. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.08.007

Kriplani, P., Guarve, K., Baghael, U.S., 2017. Arnica montana L. – a plant of healing: review. J. Pharm. Pharmacol. 69, 925–945. https://doi.org/10.1111/jphp.12724

Lin, B., Lu, Y., Salem, A.Z.M., Wang, J.H., Liang, Q., Liu, J.X., 2013. Effects of essential oil combinations on sheep ruminal fermentation and digestibility of a diet with fumarate included. Anim. Feed Sci. Technol. 184, 24–32. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.05.011

Mabayo, R.T., Furuse, M., Yang, S., Okumura, J., 1992. Metabolism Medium-Chain Triacylglycerols Enhance Release of Cholecystokinin in Chicks. J. Nutr. 122, 1702–1705. https://doi.org/10.1093/jn/122.8.1702

Macheboeuf, D., Morgavi, D.P., Papon, Y., Mousset, J.L., Arturo-Schaan, M., 2008. Dose-response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 335–350. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.044

Maulfair, D.D., McIntyre, K.K., Heinrichs, A.J., 2013. Subacute ruminal acidosis and total mixed ration preference in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96, 6610–6620. https://doi.org/10.3168/jds.2013-6771

McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beever, D.A., Newbold, C.J., 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. Appl. Environ. Microbiol. 69, 5011–5014. https://doi.org/10.1128/AEM.69.8.5011-5014.2003

Moseley, W.M., McCartor, M.M., Randel, R.D., 1977. Effects of Monensin on Growth and Reproductive Performance of Beef Heifers. J. Anim. Sci. 45, 961–968. https://doi.org/10.2527/jas1977.455961x

Nagaraja, T.G., Avery, T.B., Bartley, E.E., Roof, S.K., Dayton, A.D., 1982. Effect of lasalocid, monensin or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. J. Anim. Sci. 54, 649–658. https://doi.org/10.2527/jas1982.543649x

Nehme, R., Andrés, S., Pereira, R.B., Jemaa, M.B., Bouhallab, S., Ceciliani, F., López, S., Rahali, F.Z., Ksouri, R., Pereira, D.M., Abdennebi-Najar, L., 2021. Essential oils in livestock: From health to food quality. Antioxidants 10, 1–42. https://doi.org/10.3390/antiox10020330

Newbold, C.J., De la Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E., McEwan, N.R., 2015. The role of ciliate protozoa in the rumen. Front. Microbiol. 6, 1–14. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01313

Newbold, C.J., McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 114, 105–112. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.12.006

Parvar, R., Ghoorchi, T., Kashfi, H., Parvar, K., 2018. Effect of Ferulago angulata (Chavil) essential oil supplementation on lamb growth performance and meat quality characteristics. Small Rumin. Res. 167, 48–54. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.07.026

Patra, A.K., 2011. Effects of essential oils on Rumen fermentation, microbial ecology and Ruminant production. Asian J. Anim. Vet. Adv. https://doi.org/10.3923/ajava.2011.416.428

Polizel, D.M., Martins, A.S., Miszura, A.A., Ferraz Júnior, M.V. de C., Bertoloni, A.V., Oliveira, G.B., Barroso, J.P.R., Ferreira, E.M., Pires, A.V., 2021. Low doses of monensin for lambs fed diets containing high level of ground flint corn. Sci. Agric. 78, 1–8. https://doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0263

Russel, J.B., Strobel, H.J., 1989. Effect of Ionophores on ruminal fermentation. Appl. Environ. Microbiol. 55, 1–6.

Simitzis, P.E., 2017. Enrichment of Animal Diets with Essential Oils—A Great Perspective on Improving Animal Performance and Quality Characteristics of the Derived Products. Medicines 4, 35. https://doi.org/10.3390/medicines4020035

Smeti, S., Hajji, H., Mekki, I., Mahouachi, M., Atti, N., 2018. Effects of dose and administration form of rosemary essential oils on meat quality and fatty acid profile of lamb. Small Rumin. Res. 158, 62–68. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.10.007

Sugier, D., Sugier, P., Kowalski, R., Kołodziej, B., Olesińska, K., 2017. Foliar boron fertilization as factor affecting the essential oil content and yield of oil components from flower heads of Arnica montana L. and Arnica chamissonis Less. cultivated for industry. Ind. Crops Prod. 109, 587–597. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.014

Sugier, P., Jakubowicz-Gil, J., Sugier, D., Kowalski, R., Gawlik-Dziki, U., Kolodziej, B., Dziki, D., 2020. Chemical Characteristics and Anticancer Activity of Essential Oil from Arnica Montana L. Rhizomes and Roots. Molecules 25, 1284. https://doi.org/doi:10.3390/molecules25061284

Torres, R.N.S., Moura, D.C., Ghedini, C.P., Ezequiel, J.M.B., Almeida, M.T.C., 2020. Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and

performance of sheep. Small Rumin. Res. 189, 106148. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106148

Torres, R.N.S., Paschoaloto, J.R., Ezequiel, J.M.B., da Silva, D.A.V., Almeida, M.T.C., 2021. Meta-analysis of the effects of essential oil as an alternative to monensin in diets for beef cattle. Vet. J. 272, 105659. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105659

Van Soest, P.J., 1994. Nutritional ecology of the ruminant, 2nd ed. Cornell Univesity Press.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2

Wallace, R.J., McEwan, N.R., McIntosh, F.M., Teferedegne, B., Newbold, C.J., 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. Asian-Australasian J. Anim. Sci. 15, 1458–1468. https://doi.org/10.5713/ajas.2002.1458

Wiener, I., Inoue, K., Fagan, C.J., Lilja, P., Watson, L.C., Thompson, J.C., 1981. Release of cholecystokinin in man. Correlation of blood levels with gallbladder contraction. Ann. Surg. 194, 321–327. https://doi.org/10.1097/00000658-198109000-00010

6 EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Arnica montana* NO DESEMPENHO, COMPORTAMENTO INGESTIVO, CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA, MORFOLOGIA DO EPITÉLIO RUMINAL E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE EM CORDEIROS CONFINADOS

Resumo

O óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) é conhecido na medicina humana por seu efeito antimicrobiano. Na alimentação de ruminantes não existem relatos de sua utilização como aditivo. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da inclusão de teores crescentes de OEAM na dieta de cordeiros confinados sobre o desempenho, comportamento ingestivo, características de carcaça, morfologia do epitélio ruminal e perfil de ácidos graxos da carne. Foram utilizados 40 cordeiros mestiços Dorper x Santa Inês, não castrados, com peso médio inicial de 30,3 ± 5,76 kg (média ± desvio padrão) e 92 ± 9 dias (média ± desvio padrão). O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados (5 tratamentos e 8 blocos). Os tratamentos experimentais foram: **A0** - controle negativo (dieta padrão sem inclusão de aditivo); **A450** - inclusão de 450 mg de OEAM/kg de MS; **A900** – inclusão de 900 mg de OEAM/kg de MS; **A1350** – inclusão de 1350 mg de OEAM/kg de MS; **M25** - controle positivo (dieta contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS). Todas as dietas continham 90% de concentrado e 10% de volumoso (feno de *Coastcross*). O aumento nos teores de OEAM conferiu efeito quadrático sobre o consumo de matéria seca (CMS; $P = 0,02$), com maior CMS para A450. O CMS não diferiu entre as dietas A0 e M25. Porém, na comparação entre as dietas com OEAM e M25, o CMS foi maior ($P < 0,01$) para as dietas com OEAM. Houve aumento linear no GMD, peso corporal ao abate (PCA), peso de carcaça quente e fria (PCQ e PCF) em resposta aos teores de OEAM ($P < 0,05$). Os cordeiros que receberam as dietas com OEAM apresentaram maior GMD, PCA, PCQ e PCF que aqueles que receberam a dieta M25 ($P < 0,05$). A contagem de oocistos/g de fezes diminuiu linearmente ($P < 0,0001$) com o aumento nos teores de OEAM. O tratamento M25 teve menor contagem de oocistos ($P < 0,01$) que A0. Os cordeiros que receberam OEAM tiveram maior ($P < 0,001$) contagem de oocistos que os que receberam M25. Houve aumento linear ($P < 0,05$) no número de refeições e no tempo de alimentação com o aumento na inclusão de OEAM. Essas variáveis não diferiram entre M25 *vs.* A0 e OEAM *vs*. M25. Foi observado efeito quadrático ($P < 0,05$) para a taxa de alimentação (min/g de MS), com menor taxa para A450. A taxa de alimentação (min/g de MS e min/g de FDN) foi menor ($P < 0,05$) nas dietas com OEAM comparadas à M25. O tempo de ruminação (min/dia) foi afetado quadraticamente ($P = 0,01$) pelos teores de OEAM, com maior taxa para os cordeiros do tratamento A900. Comparado à M25 o tempo de ruminação foi maior ($P < 0,01$) nas dietas com OEAM. O tempo de mastigação e as taxas de mastigação (min/g de MS e min/g de FDN) não foram afetados pelo aumento nos teores de OEAM. O tempo de mastigação foi maior ($P = 0,03$) nas dietas com OEAM comparadas à M25. Nessa mesma comparação, a taxa de mastigação (min/g de FDN) foi menor ($P = 0,01$) nas dietas com OEAM. Não houve efeito dos tratamentos na morfologia do epitélio ruminal. O aumento na inclusão de OEAM nas dietas diminuiu a proporção de C6:0; C17:0; C18:0; C18:1 *trans*-11, C22:6 n-3 e o somatório dos ácidos graxos saturados (ΣSFA; $P < 0,05$). Por outro lado, houve aumento linear na concentração de C18:2 *cis*-

9, *cis*-12; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, no somatório dos poli-insaturados (ΣPUFA) e no somatório dos n-6 ($P < 0,05$). As dietas com OEAM diminuíram a proporção de C16:0, C17:0, C18:0 e aumentaram a proporção de C18:2 *cis*-9, *cis*-12, ΣSFA, Σn-6 e a relação n-6/n-3 ($P < 0,05$) quando comparadas à M25. A utilização de OEAM melhorou o valor nutricional da gordura da carne de cordeiro, tendo como base a avaliação da proporção hipocolesterolêmico/hipercolesterolêmico (h/H) e o índice de promoção à saúde humana (IPS). O OEAM pode ser utilizado como aditivo alimentar em substituição à monensina sódica em dietas com elevada inclusão de concentrado para cordeiros em terminação, tendo em vista que melhorou o desempenho, as características da carcaça e o perfil de ácidos graxos da carne. Dentre os teores avaliados, o teor de 1350 mg de OEAM/kg de MS é o mais recomendado. O OEAM quando comparado com a monensina sódica na dose de 25 mg/kg de MS, apresentou resultados superiores no que se refere ao desempenho e características de carcaça, embora o OEAM tenha sido menos efetivo no controle da coccidiose.

Palavras-chave: Aditivo, Comportamento ingestivo, Epitélio ruminal, Monensina, Perfil de ácidos graxos, Ovinos.

Abstract

Arnica montana essential oil (AMEO) is known in human medicine for its antimicrobial effect. In ruminant feed, there are no reports of its use as an additive. The objective of this study was to evaluate the effects of including increasing levels of AMEO in the diet of feedlot lambs on performance, ingestive behavior, carcass characteristics, morphology of the ruminal epithelium, and fatty acid profile of the meat. Forty Dorper x Santa Inês crossbred, uncastrated lambs with an average initial weight of 30.3 ± 5.76 kg (mean ± standard deviation) and 92 ± 9 days (mean ± standard deviation) were used. The experimental design was in randomized complete blocks (5 treatments and 8 blocks). The experimental treatments were: **A0** - negative control (standard diet without additive inclusion); **A450** - inclusion of 450 mg AMEO/kg DM; **A900** - inclusion of 900 mg AMEO/kg DM; **A1350** - inclusion of 1350 mg AMEO/kg DM; **M25** - positive control (diet containing 25 mg sodium monensin/kg DM). All diets contained 90% concentrate and 10% roughage (Coastcross hay). The increase in AMEO content conferred a quadratic effect on dry matter intake (DMI; $P = 0.02$), with higher DMI for A450. The DMI did not differ between diets A0 and M25. However, when comparing the AMEO and M25 diets, DMI was higher ($P < 0.01$) for the AMEO diets. There was a linear increase in ADG, body weight at slaughter (BWS), hot and cold carcass weight (HCW and CCW) in response to the AMEO contents ($P < 0.05$). Lambs that received the diets with AMEO showed higher ADG, BWS, HCW and CCW than those that received the M25 diet ($P < 0.05$). The oocyst count/g feces decreased linearly ($P < 0.0001$) with increasing AMEO content. The M25 treatment had lower oocyst counts ($P < 0.01$) than A0. Lambs receiving AMEO had higher ($P < 0.001$) oocyst counts than those receiving M25. There was a linear ($P < 0.05$) increase in the number of meals and feeding time with *increasing AMEO inclusion. These variables did not differ between M25 vs. A0* and AMEO vs. M25. A quadratic effect ($P < 0.05$) was observed for feed rate (min/g DM), with lower rate for A450. The feeding rate

(min/g DM and min/g NDF) was lower ($P < 0.05$) on AMEO diets compared to M25. Rumination time (min/day) was quadratically affected ($P = 0.01$) by AMEO content, with the highest rate for lambs in the A900 treatment. Compared to M25, rumination time was longer ($P < 0.01$) on diets with AMEO. Chewing time and chewing rates (min/g DM and min/g NDF) were not affected by increasing AMEO content. Chewing time was longer ($P = 0.03$) in diets with AMEO compared to M25. In this same comparison, the chewing rate (min/g of NDF) was lower ($P = 0.01$) in the diets with AMEO. There was no effect of treatments on rumen epithelium morphology. Increased inclusion of AMEO in the diets decreased the proportion of C6:0; C17:0; C18:0; C18:1 *trans*-11, C22:6 n-3, and the sum of saturated fatty acids (ΣSFA; $P < 0.05$). On the other hand, there was a linear increase in the concentration of C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, the sum of polyunsaturated (ΣPUFA) and the sum of n-6 ($P < 0.05$). The diets with AMEO decreased the proportion of C16:0, C17:0, C18:0 and increased the proportion of C18:2 cis-9, cis-12, ΣSFA, Σn-6 and the n-6/n-3 ratio ($P < 0.05$) when compared to M25. The use of AMEO improved the nutritional value of lamb meat fat based on the evaluation of the hypocholesterolemic/hypercholesterolemic (h/H) ratio and the human health promotion index (HPI). The AMEO can be used as a feed additive to replace sodium monensin in diets with high inclusion of concentrate for feedlot lambs, considering that it improved performance, carcass characteristics, and fatty acid profile of the meat. Among the contents evaluated, the content of 1350 mg AMEO/kg DM is the most recommended. The AMEO when compared to sodium monensin at a dose of 25 mg/kg DM, showed superior results regarding performance and carcass characteristics, although AMEO was less effective in controlling coccidiosis.

Keywords: Additive, Fatty acid profile, Ingestive behavior, Performance, Monensin, Sheep.

6.1 Introdução

Aditivos ionóforos atuam na modulação da fermentação ruminal (Fonseca et al., 2019; Goodrich et al., 1984; Tedeschi; Gorocica-Buenfil, 2018) e como promotores de crescimento. No entanto, são considerados antibióticos. Devido a isso, sua utilização na alimentação animal é discutida pelo fato de contribuírem para o surgimento de resistência aos antibióticos utilizados na medicina humana (Abadi et al., 2019). Neste cenário, pesquisadores têm explorado estratégias de manipulação da fermentação ruminal e do desempenho animal a partir de produtos naturais, como os óleos essenciais (Calsamiglia et al., 2007; Ferme et al., 2004; Jafari et al., 2019). Alguns óleos essenciais podem agir semelhantemente aos ionóforos, aumentando a produção de propionato e diminuindo a produção de metano, a relação acetato/propionato e a produção de amônia ruminal devido seu efeito antimicrobiano (Benchaar et al., 2008; Geraci et al., 2012; Jahani-Azizabadi et al., 2019).

O óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) é utilizado na medicina humana e possui efeito antimicrobiano comprovado (Ganzera et al., 2008; Sugier et al., 2017). A composição do OEAM é dependente da fração da planta utilizada na extração. O OEAM obtido das flores é composto majoritariamente por sesquiterpenos, destacando-se o β-cariofileno (Judžentiene; Budiene, 2009). O OEAM extraído da planta inteira, raízes e rizomas é rico em monoterpenos (Kriplani et al., 2017), com destaque para o canfeno, felandreno e limoneno (Kriplani et al., 2017; Sugier et al., 2020). Devido ao efeito antimicrobiano do OEAM, a hipótese desse trabalho foi que o OEAM iria atuar similarmente à monensina sódica quando associado a uma dieta com 90% de concentrado para cordeiros sobre o desempenho, o comportamento ingestivo, as características de carcaça e o perfil de ácidos graxos da carne.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de teores crescentes de OEAM em dietas ricas em concentrado para cordeiros, sobre o consumo de MS, ganho de peso, eficiência alimentar, comportamento ingestivo, características de carcaça, morfologia do epitélio ruminal e o perfil de ácidos graxos da carne. A partir dos resultados será possível definir o melhor teor de OEAM, como também comparar os efeitos do OEAM com a monensina sódica.

6.2 Materiais e métodos

6.2.1 Local, animais e instalações experimentais

O experimento foi conduzido nas instalações para confinamento do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba – SP (22º 42’ 24’’ S e 47º 37’ 53’’ O), Brasil. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/ESALQ), protocolo nº 5160100220.

Foram utilizados 40 cordeiros não castrados, mestiços (Dorper x Santa Inês), com peso médio inicial de 30,3 ± 5,76 kg (média ± desvio padrão) e idade média de 92 ± 9 dias (média ± desvio padrão). Todos os cordeiros utilizados nesse ensaio pertenciam ao rebanho do SIPOC e receberam durante a fase lactente até o desmame dieta com 100% de concentrado contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS em sistema de *creep feeding*. Após o desmame, os animais foram confinados em galpão

coberto em baias individuais (*Tie Stall*). As baias eram providas de bebedouro e cocho para fornecimento das dietas experimentais e água potável. Todos os animais no início do experimento foram desverminados com 1,0% moxidectin (Cydectin, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, São Paulo, Brasil) na dosagem de 1 mL/50 kg de peso corporal e receberam aplicação de suplemento vitamínico ADE (Vallée Injetável ADE, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil) antes do início do experimento.

6.2.2 Delineamento experimental, tratamentos e manejo experimental

O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados, com 8 blocos e 5 tratamentos. Os blocos foram definidos conforme o peso e a idade dos animais no início do experimento. O período experimental foi de 90 dias, divididos em três subperíodos de 30 dias.

As dietas experimentais foram isoenergéticas e isonitrogenadas, contendo 90% de concentrado e 10% de volumoso (feno de *Coastcross*), a formulação foi realizada utilizando o "*Small Ruminant Nutrition System*" (SRNS; Cannas et al., 2004; Tabela 20). Os tratamentos experimentais foram: **A0** - controle negativo (dieta padrão sem inclusão de aditivo); **A450** - inclusão de 450 mg de OEAM/kg de MS; **A900** - inclusão de 900 mg de OEAM/kg de MS; **A1350** - inclusão de 1350 mg de OEAM/kg de MS; **M25** - controle positivo (dieta contendo 25 mg de monensina sódica/kg de MS; Rumensin 100, Elanco do Brasil, São Paulo).

Tabela 20. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais (% MS).

Item	Tratamentos[1]				
	A0	**A450**	**A900**	**A1350**	**M25**
Ingredientes					
Feno de *Coastcross*	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho moído	73,0	72,9	72,9	72,9	72,9
Farelo de soja	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5
Cloreto de amônio	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Mistura mineral[2]	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
OEAM[3], mg/kg de MS	0	450	900	1350	-
Monensina[4], mg/kg de MS	-	-	-	-	25
Composição química[5]					
Matéria seca	86,4 ± 0,61	86,5 ± 0,41	86,5 ± 0,40	86,4 ± 0,35	86,6 ± 0,26
Matéria orgânica	94,2 ± 0,09	94,2 ± 0,04	94,2 ± 0,07	94,2 ± 0,02	94,2 ± 0,09
Proteína bruta	16,0 ± 0,17	16,0 ± 0,11	16,0 ± 0,10	16,0 ±0,12	16,0 ± 0,16
Fibra em detergente neutro	18,4 ± 0,15	18,8 ± 0,11	18,6 ± 0,15	18,4 ± 0,16	18,7 ± 0,44
Fibra em detergente ácido	4,7 ± 0,26	4,7 ± 0,27	4,6 ± 0,29	4,6 ± 0,22	4,5 ± 0,33
Extrato etéreo	3,2 ± 0,27	3,2 ± 0,20	3,2 ± 0,22	3,2 ± 0,20	3,2 ± 0,20
EM[6], Mcal/kg de MS	3,0	3,0	3,00	3,0	3,0

[1]**A0** (controle negativo) – dieta base, sem adição de aditivo; **A450** – adição de 450 mg de OEAM/kg de MS; **A900** – adição de 900 mg de OEAM/kg de MS; **A1350** – adição de 1350 mg de OEAM/kg de MS; M**25** (controle positivo) – adição de 25 mg de monensina sódica/kg de MS. [2] Ca: 154 g/kg; P: 85 g/kg; Na: 120 g/kg; Mg: 10 g/kg; S: 35 g/kg; Cu: 756 mg/kg; Mn: 2.180 mg/kg; Zn: 2.800 mg/kg; I: 56 mg/kg; Co: 44 mg/kg; Se: 14 mg/kg; F: 1.000 mg/kg. [3]Óleo essencial de *Arnica montana*: 1,58% de 2-hexanal; 0,91% de mirceno; 61,50% de limoneno; 36,01% de tricaprilato de glicerol (PipingRock Health Products, Ronkonkoma – Nova Iorque, EUA). [4] Rumensin 100 (monensina sódica, Elanco do Brasil, São Paulo, São Paulo, Brasil). [5]Considera três amostras por tratamento (n = 3). [6]Estimada usando o *Small Ruminant Nutrition System* (Cannas et al., 2004).

Amostras das dietas e dos ingredientes foram colhidas a cada batida de ração. A composição química dos ingredientes é descrita na Tabela 21.

Tabela 21. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais (% da MS).

Item[1]	**Ingredientes**		
	Feno de *Coastcross*	**Milho moído**	**Farelo de soja**
n	3	3	3
Matéria seca	87,2 ± 0,42	87,9 ± 0,26	88,9 ± 0,32
Matéria orgânica	90,2 ± 0,15	98,8 ± 0,05	92,9 ± 0,12
Proteína bruta	18,2 ± 0,25	9,6 ± 0,18	53,2 ± 0,22
Fibra em detergente neutro	76,8 ± 0,28	12,1 ± 0,04	10,9 ± 0,08
Fibra em detergente ácido	32,0 ± 0,13	2,7 ± 0,03	6,9 ± 0,04
Extrato etéreo	1,4 ± 0,10	3,3 ± 0,06	2,7 ± 0,09

[1]n: número de amostras.

O feno de *Coastcross* e o milho foram moídos utilizando triturador (Nogueira DPM – 4, Itapira, São Paulo, Brasil) com peneira com crivos de 10 mm. Todos os ingredientes das dietas A0 e M25 foram misturados utilizando misturador horizontal com capacidade para 500 kg (Lucato, Limeira, São Paulo, Brasil). Para confecção das dietas A450, A900 e A1350 foi preparada uma pré-mistura (contendo apenas a fração concentrada da dieta) utilizando o mesmo misturador. O OEAM foi pesado diariamente em balança analítica com acurácia de 0,0001 g (Sartorius BA11OS, Gottingen, Niedersachsen, Alemanha) e misturado manualmente à pré-mistura, sendo posteriormente o feno adicionado e homogeneizada à pré-mistura com OEAM. As dietas foram pesadas diariamente em balança eletrônica com precisão de 1g (Marte, LC 100, São Paulo, São Paulo, Brasil) e imediatamente ofertados (às 7 horas da manhã) na forma de ração total.

Com objetivo de manter as sobras em torno de 10% da quantidade ofertada no dia anterior, a quantidade ofertada foi diariamente definida com base na leitura de cocho realizada momentos antes do início da pesagem das rações. As sobras foram retiradas, pesadas e amostradas (10%) somente ao final de cada período experimental. Posteriormente as amostras foram compostas por tratamento e armazenadas a -18 °C até o momento das análises bromatológicas. O CMS foi determinado pela diferença entre a quantidade de ração ofertada e a respectiva sobra, ambas com base na concentração de MS (dieta e sobra). O resultado (consumido total

por período) foi dividido por 30, obtendo-se o CMS diário para cada animal em cada tratamento.

Para o cálculo do ganho médio diário de peso corporal (GMD), os cordeiros foram pesados nos dias 0, 30, 60 e 90 do período experimental após jejum de sólidos de 16 horas em balança eletrônica com precisão de 0,100 kg (KM3-N; Coimma, Dracena, São Paulo, Brasil). A partir dos dados de CMS e GMD, foi calculada a eficiência alimentar (EA; EA = g de GMD/g de CMS).

Para o melhor controle sanitário e reduzir a incidência de fatores que comprometessem o desempenho, a ocorrência de coccidiose foi avaliada através do exame de fezes para contagem de oocistos/g de fezes (OOPG). Essa avaliação foi realizada ao final de cada período experimental utilizando metodologia descrita por Ueno et al. (1988).

6.2.3 Comportamento ingestivo

Nos dias 28, 58 e 88 do experimento foi realizada a avaliação do comportamento ingestivo de cada animal, durante 24 horas, com observações realizadas a cada 5 minutos. Dois observadores devidamente treinados, observaram 20 animais cada um em turnos de avaliação de 3 horas. Foram determinados os tempos gastos com ingestão de alimento, ruminação, mastigação, ócio e ingestão de água em min/dia. O número de refeições foi contabilizado pelo número de sequências de atividades observadas na planilha para a atividade de ingestão de alimento (Filho et al., 2016).

O tempo despendido em cada atividade (expresso em min/dia) foi calculado por meio da multiplicação do número de observações por 5. O tempo total de mastigação foi considerado como a soma dos tempos de ingestão e ruminação (Weidner; Grant, 1994). Os tempos de ingestão, ruminação e mastigação foram expressos em min/g de MS e min/g de FDN ingerido. Para o cálculo das taxas de ingestão, ruminação e mastigação foi utilizado o teor de MS e FDN das dietas e sobras de cada período experimental.

6.2.4 Abate dos animais e características de carcaça

Ao final do período de confinamento, todos os animais foram abatidos. Antes do abate, os animais foram submetidos a jejum de sólidos de 16 horas. Após o período de jejum, os animais foram pesados para obtenção do peso corporal ao abate (PCA) e abatidos. O abate foi realizado por atordoamento por concussão cerebral com pistola de dardo cativo, seguido de sangria por secção das veias jugulares, esfola, evisceração e remoção da cabeça e dos membros. No abate foram seguidas as orientações do Serviço de Inspeção Federal de abate humanitário conforme à Instrução Normativa n.º 3 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Imediatamente após o abate as carcaças foram pesadas para obtenção do peso de carcaça quente (PCQ), foi utilizada uma balança com 0,100 kg de precisão (Filizola, Campo Grande, Mato Grasso do Sul, Brasil). Posteriormente as carcaças foram refrigeradas em câmara de refrigeração a 4 °C por 24 horas, após esse período foram novamente pesadas para a obtenção do peso de carcaça fria (PCF). O rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça fria (RCF) e a perda por resfriamento (PR) foram calculados pelas fórmulas: RCQ = (PCQ / PCA) × 100; RCF = (PCF / PCA) × 100; PR = [(PCQ – PCF) / PCQ] × 100.

Após registrado o PCF, as carcaças foram penduradas pelo tendão de Aquiles e o músculo *Longissimus lumborum* foi seccionado transversalmente entre a 12ª e 13ª costelas. A espessura de gordura subcutânea (EGS) foi determinada dos dois lados da carcaça utilizando paquímetro digital graduado em mm (Asimeto, Mooresville, Carolina do Norte, EUA) de acordo com Fisher et al. (1994). A face exposta do músculo *Longissimus lumborum* direito e esquerdo foram desenhadas em papel vegetal, posteriormente a área foi mensurada com auxílio do software ImageJ (Institutos Nacionais de Saúde, Bethesda, Maryland, EUA) para obtenção da área de olho de lombo (AOL). A espessura de parede corporal (EPC) foi mensurada dos dois lados da carcaça, considerando a profundidade do tecido mole (músculo e gordura) e a 12ª costela em um ponto à 11 cm de distância da linha média do lombo (Cezar; Souza, 2007). A partir dos valores obtidos do lado direito e esquerdo da carcaça, foi calculada a média aritmética de EGS, AOL e EPC por carcaça.

6.2.5 Avaliação morfológica do epitélio ruminal

Um fragmento de aproximadamente 5 cm² da região cranial do saco dorsal do rúmen de cada animal foi coletada e armazenada em frascos contendo solução de

álcool 70%. Os frascos foram mantidos sob refrigeração por um dia até o momento da avaliação do epitélio ruminal. Na avaliação um fragmento de 1 cm² foi utilizado para contagem do número de papilas por três avaliadores (Pereira et al., 2020; Resende-Junior et al., 2006). Após a contagem do número de papilas, doze papilas foram removidas aleatoriamente do fragmento e com esse fragmento foram dispostas em lâminas de vidro e escaneadas em um scaner (Samsung SCX 4200, Seul, Coreia do Sul).

As variáveis morfológicas macroscópicas avaliadas foram número de papilas por cm² de parede (NP), altura, largura e área média das papilas (AMP), área da superfície absortiva por cm² de parede (ASA) e porcentagem de papilas por área de superfície absortiva (% papilas/ASA). A área da superfície absortiva bem como a área e a altura das papilas foram mensuradas utilizando-se o programa para análise de imagens ImageJ (Institutos Nacionais de Saúde, Bethesda, Maryland, EUA). A área de superfície absortiva da parede (ASA) em centímetros quadrados foi calculada como: 1 + (NP × AMP) - (NP × 0,002), onde 1 representa 1 cm^2 de fragmento coletado e 0,002 é a área basal estimada das papilas em centímetros quadrados. A área das papilas, expressa em porcentagem de ASA, foi calculada como: (NP × AMP)/(ASA × 100) (Pereira et al., 2020; Resende-Junior et al., 2006).

6.2.6 Análises laboratoriais

Após descongeladas, as amostras dos ingredientes, das dietas ofertadas e das sobras foram secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas para determinação da matéria seca à 55 °C. Posteriormente as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) com peneiras com crivos de 1,0 mm. Após a moagem, as amostras foram secas em estufa a 105 °C por 24 horas para determinação da matéria seca à 105 °C. A matéria mineral (MM) foi determinada através da incineração das amostras em mufla a 550 °C por 4 horas (AOAC, 1990), subtraindo a MM de 100, obteve-se a matéria orgânica (MO). A concentração de nitrogênio total foi mensurada utilizando um aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, Michigan, EUA; AOAC, 1997). A proteína bruta foi calculada multiplicando a concentração de nitrogênio total por 6,25. A determinação da fração fibrosa foi realizada pelo método sequencial, utilizando α-amilase termoestável e sulfito de sódio para análise de fibra em detergente neutro (FDN; Van

Soest et al., 1991), e a fibra em detergente ácido (FDA; Goering; Van Soest, 1970), utilizando um aparelho Ankom A2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, Nova Iorque, EUA). O teor de extrato etéreo foi determinado utilizando um aparelho extrator Ankom XT15 (Ankom Tech Corp., Macedon, Nova Iorque, EUA).

6.2.7 Determinação do perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional

As etapas de extração e metilação dos ácidos graxos foram realizadas conforme descrito por Ferreira et al. (2014).

O perfil de ácidos graxos foi determinado em um cromatógrafo gasoso Shimadzu, Série 2010 Plus, equipado com uma coluna Supelco (100 m × 0,25 mm × 0,25 µm), acoplado a um detector de ionização de chama (FID). A programação de temperatura iniciou em 140 ºC, permanecendo nessa temperatura durante 5 minutos, na sequência, a uma taxa de 4 ºC/min, a programação atingiu 240 °C permanecendo nessa condição por 15 minutos. A temperatura do detector FID foi de 240 °C e do injetor de 230 °C. Como gás de arraste foi utilizado hidrogênio com velocidade linear de 20,0 cm/s. O volume da injeção foi de 1,0 µL no modo split de 1/10. A identificação dos ácidos graxos foi realizada com base no tempo de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos dos padrões. Foi utilizado um padrão de 37 compostos (Supelco mix C4 - C24 – CRM47885 – Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA). Para identificação dos ácidos graxos C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e C18:2 *trans*-10, *cis*-12 foi utilizado o padrão de ácido linoleico conjugado (O5507- Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA).

A atividade da enzima Δ^9-dessaturase e elongases foi determinada conforme descrito por Malau-Aduli et al. (1997), por meio de índices matemáticos. Os cálculos foram realizados da seguinte maneira:

C14 index = 100 × [(C14:1 *cis*-9) / (C14:1 *cis*-9 + C14:0)];

C16 index = 100 × [(C16:1 *cis*-9) / (C16:1 *cis*-9 + C16:0)];

C18 index = 100 × [(C18:1 *cis*-9) / (C18:1 *cis*-9 + C18:0)];

Total dessaturase index = 100 × [(C14:1 *cis*-9 + C16:1 *cis*-9 + C18:1 *cis*-9) / (C14:1 *cis*-9 + C16:1 *cis*-9 + C18:1 *cis*-9 + C14:0 + C16:0 + C18:0)];

Elongase = 100 × [(C18:1 *cis*-9 + C18:0) / (C16:1 *cis*-9 + C16:0 + C18:1 *cis*-9 + C18:0)].

Os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) foram estimados de acordo com Ulbricht e Southgate (1991), como indicador para o risco de doenças cardiovasculares:

IA = [C12:0 + (4 × C14:0) + C16:0] / (ΣMUFA + Σn6 + Σn3);

IT = (C12:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 × ΣMUFA) + (0,5 × Σn6) + (3 × Σn3) + (n3/n6)].

Em que: ΣMUFA = somatório de ácidos graxos monoinsaturados; Σn6 = somatório dos ácidos graxos da série ômega-6; Σn3 = somatório dos ácidos graxos da série ômega-3; n3/n6 = relação ômega-6:ômega-3.

A razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (h/H) foi calculada de acordo com Fernández et al. (2007):

h/H = (C18:1 *cis*-9 + PUFA) – (C12:0 + C14:0 + C16:0).

O índice de promoção à saúde (IPS) foi calculado de acordo com Chen et al. (2004):

IPS = (ΣPUFA n3 + ΣPUFA n6 + ΣMUFA) / [C12:0 + (4 × C14:0) + C16:0].

6.2.8 Caracterização dos compostos presentes no óleo essencial

A caracterização do óleo essencial de *Arnica montana* foi realizada no Laboratório de Óleos e Gorduras do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN/ESALQ) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil. A composição do óleo essencial de *Arnica montana* é descrita na Tabela 22.

Tabela 22. Composição do óleo essencial de *Arnica montana.*

Composto[1]	**%**
D-limoneno	61,50
Tricaprilato de glicerol	36,01
2-Hexanal	1,58
Mirceno	0,91

[1]Quantidade relativa dos compostos identificados com base na área de cada pico no cromatograma.

O óleo essencial utilizado foi obtido por extração com CO_2. Dessa forma, para obtenção apenas dos compostos voláteis, 1 mL de óleo foi adicionado em *vial* de 20 mL, o qual foi fechado hermeticamente com tampa de rosca com septo de politetraflúoretileno/silicone e mantido por 30 min em banho-maria a 40 °C. Após esse

processo para atingir o equilíbrio na concentração de voláteis entre o *headspace* e a amostra foi aguardado 5 minutos e foi posteriormente feita a inserção manual de fibra com polímeros de divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS, 50/30 µm; Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA) anexada a um suporte para micro extração de fase sólida furando o septo da tampa do *vial* e expondo a fibra em 2 cm no *headspace* no interior do *vial* por 10 min para adsorção dos voláteis. A amostra obtida foi injetada manualmente da fibra para o equipamento de leitura com 3 min para dessorção dos compostos voláteis.

A identificação dos compostos voláteis foi realizada em cromatografia gasosa/espectrometria de massa (HS-GC/MS) em um GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu Corp., Tóquio, Japão). Foi utilizado uma coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; metil silicone 5% como fase estacionária; Bellefonte, PA). O gás de arraste utilizado foi o hélio no fluxo de 1,0 mL/min. O espectro de massa foi adquirido via ionização a 70 eV na faixa de 40 a 500 *m/z*. Amostras de 1 µL foram injetadas em modo split. A temperatura do injetor e detector foi de 220 a 230 °C. A rampa de temperatura começou em 50 °C e mantida por 1,5 min, seguida de 200 °C a 4 °C/min e 240 °C a 10 °C/min, mantida por 7 min. Para identificação dos compostos voláteis, os dados (tempo de retenção e área no TIC) foram processados usando o software GCMS Solution (versão 4.20) (Shimadzu, Tóquio, Japão). A identificação foi feita por similaridade com dados de bibliotecas (WILEY8.LIB e FFNSC1.3.lib) e por cálculo do índice de retenção linear (LRI) por corrida de série de alcanos C7-C30 (Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA).

6.2.9 Análise estatística

Os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (1999). Todos os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos resíduos e remoção de outliers. A homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. O modelo estatístico para medidas repetidas foi: $Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + e_{ij} + P_k + (TP)_{jk} + e_{ijk}$, em que: μ = média geral, B_i = efeito de bloco (i= 1 a 8), T_j = efeito de tratamento (j = 1 a 5), eij = erro residual, P_k = efeito de período (k = 1 a 3), $(TP)_{jk}$ = interação entre tratamento e período experimental, e_{ijk} = erro residual B. Para medidas únicas, foi utilizado o seguinte modelo: $Y = \mu + B_i + T_j + e_{ij}$, em que: μ = média geral, B_i = efeito de bloco (i = 1 a 8), T_j = efeito de tratamento (j = 1 a 5), e_{ij} = erro

residual. A matriz de covariância que melhor se ajustou aos conjuntos de dados foi a simétrica composta (CS). As médias de cada tratamento foram obtidas utilizando o comando LSMEANS. Os efeitos dos teores de inclusão do OEAM (A0, A450, A900 e A1350) nas dietas foram avaliados por meio de contrastes ortogonais, linear (L) e quadrático (Q). Para comparar o efeito dos tratamentos foram realizados dois contrastes: 1 – dieta com monensina (controle positivo) *vs.* dieta sem aditivo (controle negativo) (M25 *vs.* A0) e 2 – dietas com OEAM *vs*. dieta com monensina (OEAM *vs.* M25). Os efeitos dos períodos e da interação entre os tratamentos e os períodos foram definidos pelo teste F da análise de variância (ANOVA). Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,05$.

6.3 Resultados

6.3.1 Desempenho e características de carcaça

Os resultados de desempenho e características de carcaça são apresentados na Tabela 23. A adição de OEAM conferiu efeito quadrático no CMS (g/dia; %PV; $\%PV^{0,75}$; $P < 0,05$), com maior consumo observado para o tratamento A450. O CMS (g/dia; %PV; $PV^{0,75}$) foi menor ($P < 0,05$) para o tratamento M25 quando comparado a A0. O CMS (g/dia; %PV; $\%PV^{0,75}$) foi maior ($P < 0,05$) nas dietas com OEAM em comparação ao tratamento M25.

Houve aumento linear no GMD e PCA ($P < 0,05$) em resposta ao aumento nos teores de OEAM. No contraste entre M25 *vs.* A0, não houve diferença para o GMD e o PCA. O GMD e PCA foram maiores ($P < 0,05$) nas dietas com OEAM quando comparadas à M25. A EA não foi afetada pelos tratamentos experimentais.

A contagem de oocistos/g de fezes (OOPG) reduziu linearmente ($P < 0,0001$) com o aumento nos teores de OEAM. O tratamento M25 teve menor ($P < 0,001$) contagem de oocistos/g de fezes em relação a A0. Na comparação entre OEAM *vs.* M25, a contagem de oocistos/g de fezes foi maior ($P < 0,001$) nas dietas com OEAM.

O PCQ e o PCF tiveram aumento linear ($P < 0,05$) com o aumento na inclusão de OEAM na dieta. O RCQ, RCF, EGS, AOL e EPC não foram afetados pela adição de OEAM na dieta. Nas comparações entre M25 *vs.* A0 e OEAM *vs.* M25 o PCQ, PCF, RCQ, RCF, EGS, AOL e EPC não diferiram.

Tabela 23. Desempenho e características de carcaça de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) ou monensina sódica.

Itens[4]	Tratamentos[1]					EPM[2]	*P-valor*[3]					
	A0	A450	A900	A1350	M25		L	Q	M25 *vs.* A0	OEAM *vs.* M25	P	T × P
Idade Inicial (dias)	93	92	87	93	93	9,2	-	-	-	-	-	-
Peso Inicial (kg)	30,3	30,1	30,2	30,5	30,3	5,76	-	-	-	-	-	-
PCA (kg)	53,3	55,3	56,6	58,5	51,3	1,02	0,03	0,97	0,21	<0,001	-	-
CMS (g/dia)	1153	1384	1327	1218	1067	78,6	0,65	0,02	0,40	<0,01	<0,0001	0,45
CMS (% PV)	2,89	3,41	3,19	2,96	2,70	0,123	0,94	<0,01	0,31	<0,01	<0,0001	0,40
CMS (% $PV^{0,75}$)	7,24	8,56	8,05	7,46	6,74	0,328	0,92	<0,01	0,31	<0,01	0,06	0,45
GMD (g/dia)	260	280	294	313	222	16,4	0,03	0,95	0,12	<0,01	0,30	0,80
EA	0,232	0,211	0,230	0,263	0,211	0,0135	0,07	0,06	0,30	0,17	0,01	0,99
OOPG	33,39	17,46	16,69	10,37	8,70	1,648	<0,0001	0,09	<0,001	<0,001	0,52	0,46
Características de carcaça												
PCQ (kg)	29,0	30,6	31,2	32,6	27,8	0,75	<0,01	0,86	0,30	<0,001	-	-
PCF (kg)	28,4	30,0	30,6	31,8	27,3	0,73	<0,01	0,77	0,35	<0,001	-	-
RCQ (%)	54,2	55,0	55,2	55,6	54,0	0,83	0,26	0,85	0,89	0,25	-	-
RCF (%)	53,1	53,9	54,1	54,3	53,1	0,81	0,28	0,72	0,96	0,33	-	-
PR (%)	2,12	2,05	1,92	1,98	1,70	0,185	0,50	0,73	0,12	0,19	-	-
EGS (mm)	2,91	3,12	3,26	3,01	2,76	0,322	0,77	0,48	0,74	0,31	-	-
AOL (cm^2)	13,35	14,09	14,14	14,17	13,48	0,393	0,28	0,50	0,86	0,31	-	-
EPC (mm)	24,54	24,42	24,68	25,40	22,22	1,084	0,57	0,72	0,16	0,06	-	-

[1]A0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); A450: adição de 450 mg de OEAM/kg de MS; A900: adição de 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350: adição de 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs*. A0: dieta com monensina (controle positivo) *vs.* dieta sem aditivo (controle negativo); OEAM *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de *Arnica montana vs*. dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo); P: efeito de período; T × P: efeito entre tratamento e período. [4]PCA: peso corporal ao abate; CMS: consumo de matéria seca; % PV: porcentagem do peso vivo; % $PV^{0,75}$: porcentagem do peso metabólico; GMD: ganho médio diário; EA: eficiência alimentar; OOPG: oocistos/g de fezes; PCQ: peso de carcaça quente; PCF: Peso de carcaça fria; RCQ: rendimento de carcaça quente; RCF: rendimento de carcaça fria; PR: perda por resfriamento; EGS: espessura de gordura subcutânea; AOL: área de olho de lombo; EPC: espessura de parede corporal.

6.3.2 Comportamento ingestivo

Os resultados referentes ao comportamento ingestivo são apresentados na Tabela 24. O consumo de MS e FDN apresentaram resposta quadrática (*P* = 0,04) aos teores de OEAM, com maior consumo para o tratamento A450. O consumo de MS e FDN não diferiram na comparação entre os tratamentos M25 e A0. Para a comparação entre OEAM e M25, as dietas com OEAM promoveram maior (*P* < 0,01) consumo de MS e FDN em relação à M25.

Os teores crescentes de OEAM aumentaram linearmente (*P* = 0,01) o número de refeições. Nos contrastes M25 *vs.* A0 e OEAM *vs.* M25 o número de refeições não foi modificado. O tempo de alimentação (min/dia) aumentou linearmente com os teores de OEAM, mas não foi afetado quando o tratamento M25 foi comparado ao A0, nem quando os tratamentos contendo OEAM foram comparados ao M25.

A taxa de alimentação (min/g de MS) apresentou resposta quadrática (*P* = 0,03) aos teores de inclusão de OEAM na dieta, com menor taxa para o tratamento A450. Contudo, quando expressa em min/g de FDN, não houve efeito dos teores de OEAM na taxa de alimentação. Na comparação entre os tratamentos M25 e A0, não houve diferença nas taxas de alimentação (min/g de MS e min/g de FDN). Por sua vez, os animais que receberam as dietas com OEAM apresentaram menores taxas (min/g de MS e min/g de FDN) quando comparados aos alimentados com o tratamento M25 (*P* < 0,05).

O tempo de ruminação (min/dia) apresentou resposta quadrática (*P* = 0,01) para inclusão de OEAM na dieta, o maior tempo de ruminação foi observado para o tratamento A900. O tempo de ruminação não foi afetado na comparação entre os tratamentos M25 e A0. Entretanto, os animais que receberam dietas com OEAM tiveram maior tempo de ruminação quando comparados aos animais do tratamento M25 (*P* < 0,01). As taxas de ruminação (min/g de MS e min/g de FDN) não diferiram entre os tratamentos.

O tempo de mastigação (min/dia) não foi alterado pela inclusão de OEAM nas dietas. O tempo de mastigação entre M25 e A0 não diferiu. Porém, as dietas contendo OEAM tiveram maior tempo de mastigação quando comparadas à M25 (*P* = 0,03). As taxas de mastigação (min/g de MS e min/g de FDN) não foram afetadas pela inclusão de OEAM na dieta. As taxas de mastigação (min/g de MS e min/g de FDN) também não foram afetadas na comparação entre os tratamentos M25 e A0. A taxa de

mastigação (min/g de MS) não diferiu para a comparação entre as dietas com OEAM e M25. No entanto, para essa mesma comparação a taxa de mastigação (min/g de FDN) foi menor para as dietas contendo OEAM (P = 0,01).

O tempo em ócio (min/dia) não diferiu entre as dietas com OEAM. Na comparação entre os tratamentos M25 e A0 não houve diferença no tempo em ócio. Mas quando as dietas com OEAM foram comparadas a M25, os animais que receberam dietas contendo OEAM permaneceram menor tempo em ócio (P = 0,04).

O tempo despendido com ingestão de água (min/dia) respondeu de forma quadrática (P < 0,01) aos teores de OEAM, com menor tempo para o tratamento A900. O tempo associado à ingestão de água não diferiu entre os tratamentos M25 e A0. Mas quando as dietas contendo OEAM foram comparadas à M25, o tempo de ingestão de água foi menor para as dietas com OEAM (P = 0,03).

Tabela 24. Comportamento ingestivo de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) ou monensina sódica.

Itens[4]	Tratamentos[1]					EPM[2]	*P-valor*[3]					
	A0	A450	A900	A1350	M25		L	Q	M25 *vs.* A0	OEAM *vs.* M25	P	T × P
CMS (g/dia)	1153	1384	1327	1218	1067	78,6	0,65	0,02	0,40	<0,01	<0,0001	0,45
CFDN (g/dia)	278	327	287	281	255	12,3	0,60	0,04	0,17	<0,01	<0,001	0,28
N.º refeições/dia	14,5	13,6	15,9	18,32	14,2	1,14	0,01	0,15	0,28	0,21	0,02	0,97
Alimentação												
min/dia	173	164	179	207	183	12,7	0,03	0,11	0,55	0,98	0,36	0,87
min/g de MS	0,16	0,12	0,14	0,17	0,19	0,015	0,33	0,03	0,49	0,02	<0,0001	0,89
min/g de FDN	0,64	0,57	0,64	0,70	0,80	0,056	0,32	0,20	0,88	0,01	<0,0001	0,59
Ruminando												
min/dia	267	290	323	257	231	17,9	0,97	0,01	0,11	<0,01	<0,01	0,13
min/g de MS	0,24	0,22	0,25	0,22	0,24	0,022	0,61	0,68	0,66	0,75	<0,0001	0,11
min/g de FDN	1,00	0,97	1,16	0,84	0,97	0,081	0,37	0,07	0,91	0,85	<0,0001	0,13
Mastigando												
min/dia	440	459	502	460	414	24,6	0,29	0,17	0,41	0,03	<0,01	0,15
min/g de MS	0,40	0,35	0,39	0,39	0,43	0,031	0,94	0,46	0,54	0,21	<0,0001	0,25
min/g de FDN	1,64	1,53	1,79	1,53	1,92	0,089	0,82	0,38	0,98	0,01	<0,0001	0,32
Ócio (min/dia)	988	976	931	970	1015	24,7	0,30	0,23	0,41	0,04	<0,01	0,11
IA (min/dia)	11,0	5,0	4,6	8,5	9,9	1,29	0,18	<0,01	0,56	0,03	<0,001	0,12

[1]A0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); A450: adição de 450 mg de OEAM/kg de MS; A900: adição de 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350: adição de 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs*. A0: dieta com monensina (controle positivo) *vs.* dieta sem aditivo (controle negativo); OEAM *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de *Arnica montana vs*. dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo); P: efeito de período; T × P: efeito entre tratamento e período. [4]CMS: consumo de matéria seca; CFDN: consumo de fibra em detergente em neutro; IA: ingestão de água.

6.3.3 Caracterização do epitélio ruminal

As variáveis estudadas para caracterização do epitélio ruminal não foram afetadas pelos tratamentos experimentais (Tabela 25).

Tabela 25. Caracterização macroscópica do epitélio ruminal de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) ou monensina sódica.

Itens[4]	**Tratamentos**[1]					**EPM**[2]	***P-valor***[3]			
	A0	**A450**	**A900**	**A1350**	**M25**		**L**	**Q**	**M25 *vs.* A0**	**OEAM *vs.* M25**
Papila (n°/cm^2)	65,5	68,3	67,6	66,5	74,7	5,10	0,92	0,71	0,23	0,26
Altura (cm)	0,63	0,64	0,56	0,57	0,59	0,032	0,09	0,98	0,39	0,92
Largura (cm)	0,18	0,21	0,19	0,19	0,19	0,014	0,99	0,30	0,67	0,72
Área papila (cm^2)	0,22	0,25	0,21	0,21	0,21	0,022	0,44	0,53	0,74	0,59
ASA (cm^2)	15,17	17,44	14,12	14,58	16,33	1,134	0,33	0,43	0,49	0,50
%papila/ASA	93,8	94,8	93,0	93,7	94,3	0,52	0,34	0,80	0,56	0,48

[1]A0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); A450: adição de 450 mg de OEAM/kg de MS; A900: adição de 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350: adição de 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs*. A0: dieta com monensina (controle positivo) *vs.* dieta sem aditivo (controle negativo); OEAM *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de *Arnica montana vs*. dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo). [4] ASA: área de superfície absortiva; %papilas/ASA: porcentagem de papilas por área de superfície absortiva.

4.5.1 Perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional

Os resultados referentes ao perfil de ácidos graxos da carne são apresentados na Tabela 26. A inclusão de OEAM nas dietas promoveu redução linear na proporção de C6:0 ($P < 0,01$); C17:0 ($P = 0,03$); C18:0 ($P = 0,04$); C18:1 *trans*-11 ($P < 0,01$), C22:6 n-3 ($P < 0,01$) e o somatório dos ácidos graxos saturados (ΣSFA; $P < 0,0001$). Por outro lado, houve aumento linear na proporção de C18:2 *cis*-9, *cis*-12 ($P < 0,01$), C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 ($P < 0,01$), no somatório dos ácidos graxos poli-insaturados (ΣPUFA; $P < 0,0001$) e dos ácidos graxos da série ômega-6 (Σn-6; $P < 0,01$) em resposta aos teores crescentes de OEAM.

Houve aumento na proporção de C16:0 ($P = 0,05$); C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 ($P < 0,01$) e redução do C18:1 *trans*-11 ($P < 0,01$) e C22:6 n-3 ($P = 0,02$) quando M25 foi comparado a A0. A inclusão de OEAM nas dietas diminuiu a proporção de C16:0 ($P < 0,01$), C17:0 ($P < 0,01$), C18:0 ($P < 0,01$) e aumentou a proporção de C18:2 *cis*-9, cis-12 ($P < 0,01$); ΣSFA ($P < 0,0001$) e o Σn-6 ($P < 0,01$), como também a relação n-6/n-3 ($P = 0,02$) no contraste com o tratamento M25.

As proporções de C8:0; C10:0; C12:0; C13:0; C14:0; C14:1 *cis*-9; C16:1 *cis*-9; C18:1 *cis*-9; C18:1 *trans*-9; C18:2 *cis*-9, *trans*-11; C18:2 *trans*-10, *cis*-12; C18:3 n-6; C20:5 n-3; C22:0; C22:2 *cis*-11,14 e C23:0 foram similares entre os tratamentos.

Foi observado efeito quadrático ($P < 0,0001$) para a inclusão de OEAM sobre o índice de dessaturação de ácidos graxos com 16 carbonos, com maior indicativo de atividade para o tratamento A900 e menor para A1350. O índice de dessaturação de ácidos graxos com 16 e 18 carbonos foi maior para os tratamentos contendo OEAM quando comparados a M25 ($P < 0,05$). Esse aumento não influenciou o índice de dessaturação total para a mesma comparação.

Os índices de aterogenicidade e trombogenicidade não diferiram entre os tratamentos. A inclusão de OEAM favoreceu maior relação entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (h/H) em relação a M25 ($P < 0,01$), para a mesma variável não foi observado diferença para as demais comparações. A utilização de OEAM melhorou o índice de promoção à saúde humana (IPS) quando comparado a M25 ($P = 0,03$). As demais comparações não diferiram.

Tabela 26. Perfil de ácidos graxos (% FAME) do músculo *Longissimus lumborum* de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) ou monensina sódica. *(continua)*

Itens[4]	Tratamentos[1]					EPM[2]	*P-valor*[3]			
	A0	A450	A900	A1350	M25		L	Q	M25 *vs.* A0	OEAM *vs.* M25
C6:0	0,035	0,027	0,024	0,020	0,027	0,0033	<0,01	0,40	0,10	0,41
C8:0	0,022	0,024	0,019	0,014	0,015	0,0057	0,58	0,59	0,54	0,27
C10:0	0,107	0,082	0,093	0,094	0,099	0,0067	0,33	0,08	0,45	0,24
C12:0	0,080	0,072	0,081	0,077	0,077	0,0077	0,98	0,82	0,82	0,99
C13:0	0,015	0,016	0,021	0,020	0,015	0,0029	0,14	0,58	0,86	0,30
C14:0	1,52	1,38	1,37	1,49	1,58	0,077	0,80	0,13	0,55	0,09
C14:1 c9	0,063	0,067	0,066	0,061	0,063	0,0053	0,78	0,41	0,99	0,77
C15:0	0,43	0,38	0,45	0,37	0,45	0,031	0,36	0,57	0,63	0,15
C16:0	21,55	20,94	20,84	21,22	22,34	0,256	0,37	0,08	0,05	<0,01
C16:1 c9	1,33	1,40	1,48	1,36	1,43	0,055	0,47	0,07	0,21	0,77
C17:0	1,88	1,72	1,80	1,50	2,07	0,109	0,03	0,51	0,21	<0,01
C18:0	10,77	10,32	9,93	9,67	11,44	0,408	0,04	0,83	0,30	<0,01
C18:1 c9	40,05	41,96	40,53	41,28	40,41	0,798	0,55	0,49	0,78	0,39
C18:1 t9	4,83	4,18	4,42	4,62	4,84	0,644	0,90	0,52	0,99	0,59
C18:1 t11	1,61	1,10	0,95	0,75	0,60	0,162	<0,01	0,36	<0,01	0,08
C18:2 c9,12	4,85	5,43	5,64	5,95	5,06	0,172	<0,01	0,45	0,42	<0,01
C18:2 c9, t11	0,133	0,124	0,127	0,135	0,143	0,0198	0,90	0,68	0,72	0,55
C18:2 t10, c12	0,119	0,110	0,116	0,125	0,107	0,0134	0,68	0,52	0,57	0,56
C18:3 c9,12,15	0,140	0,143	0,161	0,192	0,195	0,0138	<0,01	0,33	<0,01	0,07
C18:3 n-6	0,067	0,075	0,077	0,072	0,067	0,0038	0,26	0,09	0,96	0,07
C20:5 n-3	0,033	0,059	0,061	0,055	0,044	0,0282	0,58	0,53	0,80	0,68
C22:0	0,162	0,152	0,167	0,145	0,130	0,0152	0,58	0,64	0,14	0,16
C22:2 c11,14	0,069	0,071	0,093	0,072	0,061	0,0117	0,53	0,32	0,64	0,18
C22:6 n-3	0,260	0,224	0,223	0,209	0,220	0,0122	<0,01	0,37	0,02	0,92
C23:0	1,52	1,81	1,86	1,68	1,52	0,220	0,36	0,07	0,97	0,10

Tabela 26. Perfil de ácidos graxos (% FAME) do músculo *Longissimus lumborum* de cordeiros recebendo dietas com teores crescentes de óleo essencial de *Arnica montana* (OEAM) ou monensina sódica. *(conclusão)*

Itens[4]	**Tratamentos**[1]					**EPM**[2]	***P-valor***[3]			
	A0	**A450**	**A900**	**A1350**	**M25**		**L**	**Q**	**M25 *vs.* A0**	**OEAM *vs.* M25**
ΣSFA	46,69	41,95	37,53	35,72	48,72	1,303	<0,0001	0,27	0,30	<0,0001
ΣMUFA	40,89	42,34	39,69	42,31	41,81	0,867	0,69	0,52	0,50	0,74
ΣPUFA	5,04	5,63	5,99	6,19	5,32	0,202	<0,001	0,33	0,34	0,01
Σn-6	5,25	5,56	5,99	6,14	5,17	0,212	<0,01	0,70	0,81	<0,01
Σn-3	0,414	0,368	0,413	0,413	0,433	0,0309	0,61	0,40	0,89	0,71
n-6/n-3	12,62	13,64	13,90	14,54	12,74	0,473	<0,01	0,67	0,85	0,02
C14:1 Δ^9 – index	3,99	4,64	4,33	3,94	3,79	0,284	0,73	0,09	0,65	0,17
C16:1 Δ^9 – index	5,81	6,44	6,80	6,03	6,01	0,162	0,04	<0,0001	0,38	0,03
C18:1 Δ^9 – index	78,80	80,21	80,24	80,66	77,91	0,815	0,15	0,56	0,48	0,02
Δ^9-total	86,87	91,09	88,60	89,71	87,91	1,092	0,25	0,18	0,55	0,17
Elongase index	68,87	70,06	69,61	69,35	68,54	0,504	0,67	0,17	0,68	0,06
Trombogenicidade	1,40	1,29	1,34	1,30	1,43	0,058	0,30	0,49	0,74	0,06
Aterogenicidade	0,60	0,56	0,58	0,56	0,61	0,022	0,13	0,50	0,84	0,12
h/H	1,94	2,15	2,10	2,09	1,91	0,053	0,07	0,06	0,64	<0,01
IPS	1,65	1,81	1,75	1,78	1,65	0,064	0,15	0,21	0,93	0,03

[1]A0: dieta base sem inclusão de aditivo (controle negativo); A450: adição de 450 mg de OEAM/kg de MS; A900: adição de 900 mg de OEAM/kg de MS; A1350: adição de 1350 mg de OEAM/kg de MS; M25: inclusão de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (controle positivo). [2]EPM: Erro padrão da média. [3] L: efeito linear; Q: efeito quadrático; M25 *vs*. A0: dieta com monensina (controle positivo) *vs.* dieta sem aditivo (controle negativo); OEAM *vs.* M25: dietas contendo óleo essencial de *Arnica montana vs*. dieta com 25 mg de monensina/kg de MS (controle positivo). [4]ΣSFA: somatório dos ácidos graxos saturados; ΣMUFA: somatório dos ácidos graxos monoinsaturados; ΣPUFA: somatório dos ácidos graxos poli-insaturados; Σn-6: somatório dos ácidos graxos da série ômega-6; Σn-3: somatório dos ácidos graxos da série ômega-3; n-6/n-3: relação ômega-6/ômega-3; C14:1 Δ^9 – index = 100 [(C14:1 *cis*-9) / (C14:1 *cis*-9 + C14:0)]; C16:1 Δ^9 – index = 100 [(C16:1 *cis*-9) / (C16:1 *cis*-9 + C16:0)]; C18:1 Δ^9 – index = 100 [(C18:1 *cis*-9) / (C18:1 *cis*-9 + C18:0)]; Δ^9 – total = (C14:1Δ^9 – index + C16:1Δ^9 – index + C18:1Δ^9 – index); Elongase index = 100 [(C18:1 *cis*-9 + C18:0) / (C16:1 *cis*-9 + C16:0 + C18:1 *cis*-9 + C18:0)]; h/H: proporção hipocolesterolêmico e hipercolesterolêmico; IPS: índice de promoção a saúde humana.

6.4 Discussão

6.4.1 Desempenho e características de carcaça

O máximo CMS foi observado com a inclusão de 450 mg/kg de OEAM na dieta. Enquanto nas doses de 900 e 1350 mg/kg de MS de OEAM o CMS foi menor. Acredita-se que os efeitos sobre o CMS quando os teores de OEAM aumentaram na dieta possam ser relacionados aos aspectos sensoriais do OEAM. O OEAM é caracterizado por possui sabor ácido e azedo (Azevedo et al., 2020). Sendo assim, é possível indicar que teores acima de 450 mg de OEAM/kg de MS podem ser prejudiciais quando busca-se maximizar o CMS de cordeiros recebendo dietas com elevada inclusão de concentrado.

O GMD teve aumento linear com a adição de OEAM na dieta. No entanto, esse resultado não é corroborado pelo CMS. O CMS e consequentemente o consumo de energia são determinantes sobre o desempenho animal (NRC, 2007). Dessa forma, acredita-se que o OEAM tenha atuado sobre rotas metabólicas e promovido o GMD dos cordeiros recebendo os tratamentos A900 e A1350. Dias Junior et al. (2023) não observaram influência do OEAM sobre a concentração total e a proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta quando os teores de 0, 450, 900 e 1350 mg de OEAM /kg MS foram suplementados no mesmo padrão de dieta para cordeiros confinados em estudo de metabolismo. Entretanto, os mesmos autores relataram que o OEAM foi responsável por modular o metabolismo proteico. Observou-se que o aumento nos teores de OEAM proporcionou maior digestibilidade aparente da proteína bruta e retenção de nitrogênio. Assim, as alterações promovidas pelos teores de OEAM no metabolismo proteico indicam aumento da eficiência de utilização da proteína dietética, o que contribuiu para o aumento do GMD do presente estudo. Está bem estabelecido que a melhor utilização da proteína dietética desempenha um papel importante no crescimento e na produtividade dos ruminantes (Hristov et al., 2019).

Por outro lado, considerando a composição do OEAM, o D-limoneno foi o composto majoritário (61,5%), o qual já foi associado em melhorar o crescimento em outras espécies. O aumento nos teores de D-limoneno foi indicado como promotor de crescimento em peixes (Aanyu et al., 2018) e codornas (Dalkilic et al., 2015). Nesses trabalhos, o de D-limoneno foi relacionado ao aumento na taxa de crescimento, a maior síntese do fator semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1). Aanyu et al. (2018) também

descreveram que a utilização de D-limoneno na alimentação de peixes foi responsável pelo aumento na expressão do gene associado a produção de muco, o que foi relacionado a melhor absorção de nutrientes e aproveitamento da dieta. Os mesmos autores também relataram que o D-limoneno aumentou a expressão do gene transportador de oligopeptídeos no intestino, o que foi relacionado ao transporte mais eficiente de di e tripeptídeos no intestino. Por sua vez, o tricaprilato de glicerol, segundo maior constituinte do OEAM (36,01%), já foi relacionado ao aumento na secreção de colecistocinina em aves (Mabayo et al., 1992), como também ao aumento da secreção de grelina em humanos e ratos (Lemarié et al., 2016). A colecistocinina estimular a contração da vesícula biliar e a secreção de enzimas pancreáticas, contribuindo para melhor digestão dos nutrientes no intestino (Wiener et al., 1981). Enquanto a grelina está relacionada ao aumento na síntese do hormônio do crescimento (GH) em humanos, ratos e pequenos ruminantes (Goldstein et al., 2011; Lemarié et al., 2016). Os efeitos do D-limoneno e do tricaprilato de glicerol sobre os fatores supracitados são escassos para ruminantes, evidenciando a necessidade de mais pesquisas com esses compostos nos aspectos fisiológicos, síntese de hormônios, digestão, absorção de nutrientes, que possivelmente foram otimizados e contribuíram para o aumento do GMD no presente estudo. É importante destacar também que a interação entre os compostos presentes no OEAM (2-hexanal – 1,58% e mirceno – 0,91%), possivelmente agiram aditivamente ou sinergicamente quando combinados com o D-limoneno e o tricaprilato de glicerol, contribuindo para os resultados obtidos, especialmente com relação à melhoria do desempenho dos cordeiros.

A monensina sódica é bem conhecida por modular a fermentação ruminal e a digestibilidade da dieta (Ellis et al., 2012; Martins et al., 2018), conferindo aumento no GMD e na EA de ruminantes (Duffield et al., 2012; Goodrich et al., 1984). No presente estudo, os cordeiros alimentados com dietas contendo OEAM apresentaram desempenho superior aos alimentados com a dieta contendo monensina sódica (M25). Semelhante aos resultados do presente trabalho, Polizel et al. (2021) observaram redução no desempenho de cordeiros recebendo uma dieta com 24 mg de monensina/kg de MS. Os mesmos autores indicaram que a dose de 8 mg de monensina/kg de MS é a mais indicada quando se busca otimizar o desempenho de cordeiros alimentados com dietas ricas em energia. Portanto, os resultados do presente experimento, em adição ao experimento de Polizel et al. (2021) torna

iminente a realização de estudos para definição da dose ideal de monensina sódica em dietas ricas em concentrado para cordeiros confinados, especialmente com relação aos efeitos das doses baixas, como a de 8 mg/kg de MS, no controle da coccidiose, informação não disponível na literatura. Vale destacar que no presente experimento, embora com efeito negativo sobre o desempenho dos cordeiros, a monensina sódica na dose de 25 mg/kg de MS foi a mais efetiva no controle da coccidiose (Tabela 23). Por sua vez, o OEAM demonstrou efeito intermediário, promovendo certo nível de controle sobre a coccidiose em relação ao tratamento sem aditivo (A0), mas foi menos efetivo que a monensina sódica. Contudo, vale destacar a diminuição linear na contagem de oocistos/g de fezes (OOPG) em resposta ao aumento nas concentrações do OEAM nas dietas, dando a entender que a atividade biológica do OEAM se manteve no pós-rúmen. Já foi relato que o D-limoneno possui efeito pronunciado sobre parasitas gastrointestinais em ovinos (Gaínza et al., 2015), coerente com os resultados do presente experimento, uma vez que o D-limoneno foi o principal composto encontrado no OEAM.

O aumento linear no PCA, PCQ e PCF teve relação direta com o maior GMD dos animais em resposta à inclusão de teores crescentes de OEAM nas dietas (Tabela 23). Torres et al., (2020) descreveram redução no PCQ e PCF quando cordeiros receberam altas doses de óleo essencial na dieta. Porém, Parvar et al. (2018) observaram que o aumento nas doses de óleo essencial na dieta de cordeiros não comprometeu o PCQ, PCF e as características de carcaça. A divergência nos resultados encontrados na literatura para utilização de óleos essenciais sobre os parâmetros de carcaça deve ser atribuída ao tipo de óleo essencial, sua composição, a dose e as características nutricionais da dieta (Khiaosa-Ard; Zebeli, 2013). Similarmente, o maior GMD dos animais alimentados com as dietas contendo OEAM explica o maior PCA, PCQ e PCF na comparação com os animais alimentados com a dieta M25.

6.4.2 Comportamento ingestivo

O efeito quadrático no consumo de FDN quando os teores de OEAM aumentaram na dieta pode ser explicado pelo efeito quadrático observado sobre o CMS (Tabela 24), tendo em vista que o teor de FDN das dietas foi similar (Tabela 20).

O CMS também explica o maior consumo de FDN na comparação entre os cordeiros que receberam dietas contendo OEAM e os que receberam a dieta M25 (Tabela 24).

O aumento linear no tempo de alimentação (min/dia) em resposta aos teores crescentes de OEAM é justificado pelo acréscimo linear no número de refeições. Por sua vez, o aumento linear no número de refeições pode estar relacionado as características sensoriais do OEAM, o qual é caracterizado por possuir sabor ácido e azedo (Azevedo et al., 2020). Entretanto, vale destacar que o parcelamento do consumo deve ser encarado como efeito benéfico em favor do OEAM, pois possibilita entrada regular de matéria orgânica fermentescível no rúmen, diminuindo os riscos de ocorrência de acidose ruminal (González et al., 2012). Em todas as comparações, a taxa de alimentação (min/g de MS) acompanhou o CMS, que dentre os animais que receberam OEAM foi superior no tratamento A450. Em contrapartida, no contraste a taxa de alimentação (min/g de MS e min/g de FDN) foi inferior para os cordeiros que receberam OEAM em comparação aos do tratamento M25.

Beauchemin (2018) ressaltou que o consumo de FDN está intimamente associado à atividade de ruminação. Dessa forma, o maior consumo de FDN pelos cordeiros alimentados com as dietas contendo OEAM explica o maior tempo de ruminação (min/dia) na comparação com os animais alimentados com a dieta M25.

Segundo Grant (1997), a diminuição no consumo de FDN está relacionada ao aumento na eficiência de ruminação e mastigação. O aumento na taxa de mastigação foi relatado como um mecanismo a fim de corrigir o pH ruminal e aumentar a passagem de partículas através do rúmen (Woodford; Murphy, 1988). Portanto, é possível inferir que a menor taxa de mastigação (min/g de FDN) dos cordeiros que receberam OEAM em relação ao tratamento M25 foi devido ao maior consumo de FDN. Assim sendo, os cordeiros do tratamento M25 por consumir menor em quantidade de FDN, maximizaram a taxa de mastigação por unidade de FDN. No geral, é possível dizer que os efeitos do OEAM no comportamento alimentar dos cordeiros foram devido aos efeitos sobre o consumo de MS e de FDN. Não foi observada nenhuma evidência de que o OEAM exerça efeitos extras no comportamento alimentar, que não possam ser explicados pelas variações observadas no consumo de MS e FDN.

6.4.3 Caracterização macroscópica do epitélio ruminal

A ausência de efeito sobre as variáveis estudadas para caracterizar o epitélio ruminal indicam que os animais de todos os tratamentos apresentaram boa saúde ruminal, uma vez que condições ruminais adversas podem comprometer o desenvolvimento do epitélio ruminal (Baldwin; Connor, 2017).

6.4.4 Perfil de ácidos graxos da carne, índices de atividade enzimática e valor nutricional

Óleos essenciais são descritos como inibidores do processo de biohidrogenação (Lourenço et al., 2008; Parvar et al., 2018). A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, é possível inferir que a inclusão de OEAM possivelmente modulou a biohidrogenação dos ácidos graxos no rúmen. Essa afirmação é pautada na diminuição linear na proporção dos ácidos graxos C17:0, C18:0 e C18:1 *trans*-11 e aumento linear do C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 quando os teores de OEAM aumentaram na dieta. O C17:0 como outros ácidos graxos de cadeia ímpar são formados no rúmen pela elongação do propionato e compõem a membrana celular de bactérias (Or-Rashid et al., 2007). Alterações na proporção de ácidos graxos de cadeia ímpar na carne ou no leite são descritas como ferramentas potenciais para verificar o efeito da dieta sobre o crescimento microbiano e o processo de biohidrogenação ruminal (Buccioni et al., 2012; Fievez et al., 2012). Vlaeminck et al., (2006) relataram que bactérias *Butyiribrio fibrisolvens* possuem em média 4,3 g de C17:0 para cada 100 g de ácido graxo. Dessa forma, esse grupo de bactérias pode contribuir significativamente para o aumento de C17:0 nos produtos de ruminantes quando o crescimento microbiano não é comprometido. Sendo assim, a redução na proporção de C17:0 é um indicativo de que o aumento nos teores de OEAM pode ter comprometido o crescimento microbiano e afetado o processo de biohidrogenação. Lourenço et al. (2010) observaram que as bactérias *Butyribrio fibrisolvens* são fundamentais para o processo de biohidrogenação, pois atuam na hidrólise e na isomerização dos ácidos graxos C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15. Wood et al. (2004) relataram que o aumento de C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 na carne está relacionado a intensidade do processo de biohidrogenação. Os mesmos autores destacaram que esse processo quando comprometido aumenta a passagem e deposição de PUFA na carne. No presente estudo, o aumento linear na proporção de PUFA na carne e o perfil de ácidos graxos idêntico entre as dietas (perfil

de ácidos graxos da dieta: C12:0 – 0,17%; C14:0 – 0,33%; C16:0 – 14,79%; C18:0 – 4,13%; C18:1 cis-9 – 27,89%; C18:2 cis-9, cis 12 – 41,75% e C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 – 3,41%), sustentam a hipótese de que o processo de biohidrogenação possivelmente foi menos pronunciado à medida que os teores de OEAM aumentaram nas dietas.

A diminuição linear na proporção dos ácidos graxos C18:0 e C18:1 *trans*-11 também dá suporte à hipótese de que a biohidrogenação foi comprometida com o aumento nos teores de OEAM. Palmquist et al. (2004) descreveram que esses ácidos graxos são postos-chave da biohidrogenação, o C18:1 *trans*-11 o principal intermediário e o C18:0 o produto final. A diminuição desses ácidos graxos na carne ou no leite são indicativos que a biohidrogenação foi reduzida (Enjalbert et al., 2017), como também a diminuição no somatório dos ácidos graxos saturados, que também diminuiu com o aumento nos teores de OEAM.

A diminuição linear na proporção de C22:6 n-3 quando aumentou a inclusão de OEAM na dieta pode ser justificada pela maior proporção de PUFA que escapou da biohidrogenação ruminal, principalmente o C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e o C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15. A síntese endógena de C22:6 n-3 é resultante da ação de enzimas dessaturases e elongases, as quais têm menor atividade quando ocorre aumento de ácidos graxos insaturados da dieta sobre a deposição no tecido adiposo. Oliveira et al. (2014) destacaram que alguns ácidos graxos podem modular a expressão de genes associados ao metabolismo lipídico. Cao et al. (2008) e Yang et al. (2011)relataram que o aumento de ácidos graxos insaturados sobre a taxa de deposição está associado a diminuição na expressão gênica da enzima estaroil-CoA dessaturase. Essa mesma justificativa se aplica ao efeito quadrático observado para a atividade da enzima dessaturase sobre os ácidos graxos com 16 carbonos. O menor valor desse índice observado para o tratamento A1350 pode ser um indicativo de que os processos associados a lipogênese foram comprometidos de forma mais pronunciada, o que é corroborado pela diminuição linear de C6:0 nas dietas contendo OEAM, o qual é formado majoritariamente pelo processo de síntese de novo.

A partir do contraste entre as dietas com OEAM e M25 é possível dizer que o controle sobre a biohidrogenação foi mais pronunciado quando as dietas continham OEAM. Essa hipótese tem como base a diminuição na proporção de C17:0 para os tratamentos com OEAM. Lourenço et al. (2008) destacaram efeito pronunciado da utilização de óleos essenciais em relação à monensina sobre a modulação da

biohidrogenação. As dietas com OEAM favoreceram a diminuição dos ácidos graxos saturados C16:0 e C18:0; e aumentaram a proporção de C18:2 *cis*-9, *cis*-12. A diminuição nas proporções de C16:0 e C18:0 também pode ser associada ao maior índice de dessaturação sobre os ácidos graxos de 16 e 18 carbonos para os tratamentos com OEAM. Dessa forma, o aumento dos índices de dessaturação associado a biohidrogenação menos intensa podem justificar a diminuição no somatório de SFA nos tratamentos com OEAM. Por outro lado, o aumento na proporção de C18:2 *cis*-9, *cis*-12 refletiu em maior somatório de PUFA e ácidos graxos n-6, o que contribuiu para a maior relação n-6/n-3 nas dietas contendo OEAM.

A monensina já é destacada na literatura como um modulador da biohidrogenação (Jenkins et al., 2003; Ye et al., 2018). Dessa forma, os efeitos observados entre os tratamentos A0 e M25 podem ser justificados pela ação da monensina sobre a biohidrogenação, pois a proporção de C18:1 *trans*-11 foi menor para o tratamento M25, seguido do aumento na proporção de C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15.

A relação n-6/n-3 média no presente trabalho foi de 13,48. Boughalmi e Araba (2016) descreveram que a relação n-6/n-3 mais indicada com relação aos benefícios à saúde humana é de 4:1, ou seja, abaixo da média observada. Porém, Russo (2009) destacou que a relação n-6/n-3 de até 10:1 não é prejudicial à saúde humana. O resultado encontrado para a proporção n-6/n-3 pode estar associado à genética dos animais, como também ao perfil da dieta utilizada. Madruga et al. (2006) relataram que cordeiros Dorper em terminação podem depositar maiores concentrações de ácidos graxos saturados quando mais jovens e, consequentemente, reduzir a quantidade de PUFA que compõem os fosfolipídios de membrana. Da mesma forma, outros estudos que avaliaram o perfil de ácidos graxos de cordeiros mestiços Dorper x Santa Inês observaram uma relação n-6/n-3 elevada, sendo 12,64 (Bezerra et al., 2016), 9,43 (Morgado et al., 2018) e 7,23 (Ricardo et al., 2015) no músculo *Longissimus* de cordeiros. É importante destacar que o aumento linear observado para a relação n-6/n-3 quando o OEAM foi adicionado a dieta pode ser associado ao aumento considerável na proporção de C18:2 *cis*-9, *cis*-12 na carne, uma vez que o aumento na proporção de C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 não ocorreu na mesma magnitude.

O índice de aterogenicidade recomendado para carne de cordeiro é abaixo de 1,00, a fim de reduzir a influência da dieta na incidência de doenças cardíacas

coronárias (Ulbricht; Southgate, 1991). A média para o índice de aterogenicidade entre os tratamentos foi de 0,58. Segundo Scollan et al. (2017), valores abaixo de 1,00 para esse índice refletem maior quantidade de ácidos graxos antiaterogênicos na carne. O índice de trombogenicidade recomendado para carne de cordeiro é 1,33 (Ulbricht; Southgate, 1991). A média para esse índice foi de 1,35, com maior valor para o tratamento M25 (1,43), reflexo da maior proporção de C16:0 e C18:0 encontrada na carne dos animais desse tratamento. A partir do contraste entre as dietas com OEAM e M25, foi possível observar que a inclusão de OEAM melhorou o valor nutricional da gordura da carne, uma vez que a proporção de ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (h/H) foi reduzida e o índice de promoção a saúde a humana (IPS) foi maior. A redução na proporção h/H e o aumento no IPS é relatado na literatura como promotores da saúde humana, o que está associado ao melhor valor nutricional dos ácidos graxos presente na carne (Chen et al., 2004; Fernández et al., 2007). O aumento na proporção h/H está associado a diminuição do colesterol total, triglicérides e da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Santos-Silva et al., 2002). Por outro lado, o aumento no índice IPS é associado à redução na incidência de doenças cardiovasculares (Chen; Liu, 2020).

6.5 Conclusão

O OEAM demonstrou excelente função como aditivo alimentar, tendo em vista que aumentou o ganho de peso, melhorou as características de carcaça e o perfil de ácidos graxos da carne, sem nenhum indicativo de ser prejudicial ao animal. Portanto, entre os teores avaliados, zootecnicamente recomenda-se o uso de 1350 mg de OEAM/kg de MS em dietas para cordeiros em terminação. No que se refere aos benefícios sobre o desempenho animal e às características de carcaça, o OEAM foi superior a monensina sódica na dose de 25 mg/kg de MS. Contudo, vale mencionar que a monensina sódica foi mais efetiva no controle da coccidiose. Recomenda-se a condução de mais estudos com o OEAM, principalmente no que diz respeito aos efeitos desse óleo essencial sobre a síntese hormonal, a digestão e a absorção de nutrientes.

REFERÊNCIAS

Aanyu, M., Betancor, M.B., Monroig, O., 2018. Effects of dietary limonene and thymol on the growth and nutritional physiology of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Aquaculture 488, 217–226. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.01.036

Abadi, A.T.B., Rizvanov, A.A., Haertlé, T., Blatt, N.L., 2019. World Health Organization Report: Current Crisis of Antibiotic Resistance. Bionanoscience 9, 778–788. https://doi.org/10.1007/s12668-019-00658-4

AOAC, 1997. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. Gaithersburg.

AOAC, 1990. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis, 15th ed. Arlington.

Azevedo, F., Augusto, H., Vieira, M., 2020. in Elder People of UNIESTE * in Lisbon (* Intergenerational University of Estefânia Club) Arnica Montana in Joint Pain. J Altern Complement Integr Med 6. https://doi.org/10.24966/ACIM-7562/100134

Baldwin, R.L., Connor, E.E., 2017. Rumen Function and Development. Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract. 33, 427–439. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.06.001

Beauchemin, K.A., 2018. Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows. J. Dairy Sci. 101, 4762–4784. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13706

Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Anim. Feed Sci. Technol. 145, 209–228. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014

Bezerra, L.S., Barbosa, A.M., Carvalho, G.G.P., Simionato, J.I., Freitas, J.E., Araújo, M.L.G.M.L., Pereira, L., Silva, R.R., Lacerda, E.C.Q., Carvalho, B.M.A., 2016. Meat quality of lambs fed diets with peanut cake. Meat Sci. 121, 88–95. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.05.019

Boughalmi, A., Araba, A., 2016. Effect of feeding management from grass to concentrate feed on growth, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of Timahdite lamb breed. Small Rumin. Res. 144, 158–163. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.09.013

Buccioni, A., Decandia, M., Minieri, S., Molle, G., Cabiddu, A., 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. Anim. Feed Sci. Technol. 174, 1–25. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.02.009

Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A., 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. J. Dairy Sci. 90, 2580–2595. https://doi.org/10.3168/jds.2006-644

Cannas, A., Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Pell, A.N., Van Soest, P.J., 2004. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. J. Anim. Sci. 82, 149–169.

Cao, H., Gerhold, K., Mayers, J.R., Wiest, M.M., Watkins, S.M., Hotamisligil, G.S., 2008. Identification of a Lipokine, a Lipid Hormone Linking Adipose Tissue to Systemic Metabolism. Cell 134, 933–944. https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.048

Cezar, M.F., Souza, W.H., 2007. Sheep and goat carcasses: procurement, evaluation and classification, Agropecuár. ed. Uberaba-MG.

Chen, J., Liu, H., 2020. Nutritional indices for assessing fatty acids: A mini-review. Int. J. Mol. Sci. 21, 1–24. https://doi.org/10.3390/ijms21165695

Chen, S., Bobe, G., Zimmerman, S., Hammond, E.G., Luhman, C.M., Boylston, T.D., Freeman, A.E., Beitz, D.C., 2004. Physical and sensory properties of dairy products from cows with various milk fatty acid compositions. J. Agric. Food Chem. 52, 3422–3428. https://doi.org/10.1021/jf035193z

Dalkilic, B., Simsek, U.G., Ciftci, M., Baykalir, Y., 2015. Effect of dietary orange peel essential oil on physiological, biochemical and metabolic responses of Japanese quails as affected by early age thermal conditioning and fasting. Rev. Med. Vet. (Toulouse). 166, 154–162.

Dias Junior, P.C.G., dos Santos, I.J., Gasparina, J.M., Bandoria, N.A., Soares, L.C.B., da Silva, A.L.A., de Assis, R.G., Polizel, D.M., Biava, J.S., Pires, A.V., Ferreira, E.M., 2023. Essential oil from Arnica montana alters the protein metabolism in lambs fed with high-concentrate diets. Small Rumin. Res. 219. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2022.106894

Duffield, T.F., Merrill, J.K., Bagg, R.N., 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. J. Anim. Sci. 90, 4583–4592. https://doi.org/10.2527/jas.2011-5018

Ellis, J.L., Dijkstra, J., Bannink, A., Kebreab, E., Hook, S.E., Archibeque, S., France, J., 2012. Quantifying the effect of monensin dose on the rumen volatile fatty acid profile in high-grain-fed beef cattle. J. Anim. Sci. 90, 2717–2726. https://doi.org/10.2527/jas.2011-3966

Enjalbert, F., Combes, S., Zened, A., Meynadier, A., 2017. Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. J. Appl. Microbiol. 123, 782–797. https://doi.org/10.1111/jam.13501

Ferme, D., Banjac, M., Calsamiglia, S., Busquet, M., Kamel, C., Avguštin, G., 2004. The effects of plant extracts on microbial community structure in a rumen-simulating continuous-culture system as revealed by molecular profiling. Folia Microbiol. (Praha). 49, 151–155. https://doi.org/10.1007/BF02931391

Fernández, M., Ordóñez, J.A., Cambero, I., Santos, C., Pin, C., Hoz, L., 2007. Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. Food Chem. 101, 107–112.

https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.006

Ferreira, E.M., Pires, A. V., Susin, I., Gentil, R.S., Parente, M.O.M., Nolli, C.P., Meneghini, R.C.M., Mendes, C.Q., Ribeiro, C.V.D.M., 2014. Growth, feed intake, carcass characteristics, and meat fatty acid profile of lambs fed soybean oil partially replaced by fish oil blend. Anim. Feed Sci. Technol. 187, 9–18. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.09.016

Fievez, V., Colman, E., Castro-Montoya, J.M., Stefanov, I., Vlaeminck, B., 2012. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function-An update. Anim. Feed Sci. Technol. 172, 51–65. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.008

Filho, A.E., Carvalho, G.G.P., Pires, A.J.V., Silva, R.R., Santos, P.E.F., Murta, R.M., Pereira, F.M., Carvalho, B.M.A., Maranhão, C.M.A., Rufino, L.M.A., Santos, S.A., Pina, D.S., 2016. Intake and ingestive behavior in lambs fed low-digestibility forages. Trop. Anim. Health Prod. 48, 1315–1321. https://doi.org/10.1007/s11250-016-1090-x

Fisher, A. V., Boer, H., 1994. The EAAP standard method of sheep carcass assessment. Carcass measurements and dissection procedures report of the EAAP working group on carcass evaluation, in cooperation with the CIHEAM instituto agronomico Mediterraneo of Zaragoza and the CEC directora. Livest. Prod. Sci. 38, 149–159. https://doi.org/10.1016/0301-6226(94)90166-X

Fonseca, M.P., Costa Cruz Borges, A.L.C.C., Carvalho, P.H.A., Silva, R.R., Gonçãlves, L.C., Borges, I., Lage, H.F., Ferreira, A.L., Saliba, E.O.S., Jayme, D.G., Glória, J.R., Graça, D.S., Meneses, R.M., De Carvalho, A.Ú., Filho, E.J.. F., Silva, A.A., 2019. Energy partitioning in cattle fed diets based on tropical forage with the inclusion of antibiotic additives. PLoS One 14, 1–11. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211565

Gaínza, Y.A., Domingues, L.F., Perez, O.P., Rabelo, M.D., López, E.R., Chagas, A.C.S., 2015. Anthelmintic activity in vitro of Citrus sinensis and Melaleuca quinquenervia essential oil from Cuba on Haemonchus contortus. Ind. Crops Prod. 76, 647–652. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.056

Ganzera, M., Egger, C., Zidorn, C., Stuppner, H., 2008. Quantitative analysis of flavonoids and phenolic acids in Arnica montana L. by micellar electrokinetic capillary chromatography. Anal. Chim. Acta 614, 196–200. https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.03.023

Geraci, J.I., Garciarena, A.D., Gagliostro, G.A., Beauchemin, K.A., Colombatto, D., 2012. Plant extracts containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminal environment, short term intake pattern and animal performance. Anim. Feed Sci. Technol. 176, 123–130. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.015

Goering, H.K., Van Soest, P.J., 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications), Agriculture Handbook nº 379. US Department of Agriculture, Washington, DC.

Goldstein, J.L., Zhao, T.J., Li, R.L., Sherbet, D.P., Liang, G., Brown, M.S., 2011. Surviving starvation: Essential role of the ghrelin-growth hormone axis. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 76, 121–127. https://doi.org/10.1101/sqb.2011.76.010447

González, L.A., Manteca, X., Calsamiglia, S., Schwartzkopf-Genswein, K.S., Ferret, A., 2012. Ruminal acidosis in feedlot cattle: Interplay between feed ingredients, rumen function and feeding behavior (a review). Anim. Feed Sci. Technol. 172, 66–79. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.009

Goodrich, R.D., Garrett, J.. E., Gast, D.R., Kirick, M.A., Larson, D.A., Meiske, J.. C., 1984. Influence of Monensin on the Performance of Cattle. J. Anim. Sci. 58, 1484–1498.

Grant, R.J., 1997. Interactions among Forages and Nonforage Fiber Sources. J. Dairy Sci. 80, 1438–1446. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76073-9

Hristov, A.N., Bannink, A., Crompton, L.A., Huhtanen, P., Kreuzer, M., McGee, M., Nozière, P., Reynolds, C.K., Bayat, A.R., Yáñez-Ruiz, D.R., Dijkstra, J., Kebreab, E., Schwarm, A., Shingfield, K.J., Yu, Z., 2019. Invited review: Nitrogen in ruminant nutrition: A review of measurement techniques. J. Dairy Sci. 102, 5811–5852. https://doi.org/10.3168/jds.2018-15829

Jafari, S., Ebrahimi, M., Goh, Y.M., Rajion, M.A., Jahromi, M.F., Al-Jumaili, W.S., 2019. Manipulation of rumen fermentation and methane gas production by plant secondary Metabolites (saponin, tannin and essential oil) – a review of ten-year studies. Ann. Anim. Sci. 19, 3–29. https://doi.org/10.2478/aoas-2018-0037

Jahani-Azizabadi, H., Durmic, Z., Vadhanabhuti, J., Vercoe, P., 2019. Effect of some australian native shrubs essential oils on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet. J. Anim. Plant Sci. 29, 8–15.

Jenkins, T.C., Fellner, V., McGuffey, R.K., 2003. Monensin by fat interactions on trans fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. J. Dairy Sci. 86, 324–330. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73609-1

Judžentiene, A., Budiene, J., 2009. Analysis of the chemical composition of fower essential oils from Arnica montana of Lithuanian origin. Chemija 20, 190–194.

Khiaosa-Ard, R., Zebeli, Q., 2013. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. J. Anim. Sci. 91, 1819–1830. https://doi.org/10.2527/jas.2012-5691

Kriplani, P., Guarve, K., Baghael, U.S., 2017. Arnica montana L. – a plant of healing: review. J. Pharm. Pharmacol. 69, 925–945. https://doi.org/10.1111/jphp.12724

Lemarié, F., Beauchamp, E., Legrand, P., Rioux, V., 2016. Revisiting the metabolism and physiological functions of caprylic acid (C8:0) with special focus on ghrelin octanoylation. Biochimie 120, 40–48. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.08.002

Lourenço, M., Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Fievez, V., 2008. Effects of saponins, quercetin, eugenol, and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. J. Anim. Sci. 86, 3045–3053. https://doi.org/10.2527/jas.2007-0708

Lourenço, M., Ramos-Morales, E., Wallace, R.J., 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. Animal 4, 1008–1023. https://doi.org/10.1017/S175173111000042X

Mabayo, R.T., Furuse, M., Yang, S., Okumura, J., 1992. Metabolism Medium-Chain Triacylglycerols Enhance Release of Cholecystokinin in Chicks. J. Nutr. 122, 1702–1705.

Madruga, M.S., De Araújo, W.O., De Sousa, W.H., Cézar, M.F., Galvão, M.D.S., Cunha, M.D.G.G., 2006. Effect of genotype and sex on chemical composition and fatty acid profile of sheep meat | Efeito do genótipo e do sexo sobre a composição química e o perfil de ácidos graxos da carne de cordeiros. Rev. Bras. Zootec. 35, 1838–1844. https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000600035

Malau-Aduli, A.E.O., Siebert, B.D., Bottema, C.D.K., Pitchford, W.S., 1997. A comparison of the fatty acid composition of triacylglycerols in adipose tissue from Limousin and Jersey cattle. Aust. J. Agric. Res. 48, 715. https://doi.org/10.1071/A96083

Martins, A.S., Polizel, D.M., Barroso, J.P.R., Oliveira, G.B., Limede, A.C., Sardinha, L.A., Miszura, A.A., Pires, A. V., 2018. New perspectives on the use of sodium monensin for feedlot lambs, in: Baliero, J.C.C., Gameiro, A.H., Pereira, A.S.C., Rodrigues, P.H.M., Garboza, C.A.P., Brunetto, M.A., Ventura, R.V. (Eds.), New Challenges of Research in Nutrition and Animal Production. Pirassununga - SP, Brazil, pp. 262–277.

Morgado, A.A., Nunes, G.R., Bôas, B.R.V., Carvalho, P.B.J., Rodrigues, P.H.M., Susin, I., Sucupira, M.C.A., Pereira, A.S.C., 2018. Meat quality of lambs supplemented with intramuscular vitamin E. Pesqui. Vet. Bras. 38, 679–684. https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5128

NRC, 2007. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids and new world camelids. National Research Council, Washington.

Oliveira, D.M., Chalfun, A., Chizzotti, M.L., Barreto, H.G., Coelho, T.C., Paiva, L. V., Coelho, C.P., Teixeira, P.D., Schoonmaker, J.P., Ladeira, M.M., 2014. Expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with or without monensin supplementation. J. Anim. Sci. 92, 5426–5436. https://doi.org/10.2527/jas2014-7855

Or-Rashid, M.M., Odongo, N.E., McBride, B.W., 2007. Fatty acid composition of ruminai bacteria and protozoa, with emphasis on conjugated linoleic acid, vaccenic acid, and odd-chain and branched-chain fatty acids. J. Anim. Sci. 85, 1228–1234. https://doi.org/10.2527/jas.2006-385

Palmquist, D.L., St-Pierre, N., McClure, K.E., 2004. Tissue fatty acid profiles can be used to quantify endogenous rumenic acid synthesis in lambs. J. Nutr. 134, 2407–

2414. https://doi.org/10.1093/jn/134.9.2407

Parvar, R., Ghoorchi, T., Kashfi, H., Parvar, K., 2018. Effect of Ferulago angulata (Chavil) essential oil supplementation on lamb growth performance and meat quality characteristics. Small Rumin. Res. 167, 48–54. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.07.026

Pereira, M.C.S., Dellaqua, J.V.T., Sousa, O.A., Santi, P.F., Felizari, L.D., Reis, B.Q., Pinto, A.C.J., Bertoldi, G.P., Silvestre, A.M., Watanabe, D.H.M., Estevam, D.D., Arrigoni, M.D.B., Millen, D.D., 2020. Feedlot performance, feeding behavior, carcass and rumen morphometrics characteristics of Nellore cattle submitted to strategic diets prior the adaptation period. Livest. Sci. 234, 103985. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103985

Polizel, D.M., Martins, A.S., Miszura, A.A., Ferraz Júnior, M.V. de C., Bertoloni, A.V., Oliveira, G.B., Barroso, J.P.R., Ferreira, E.M., Pires, A.V., 2021. Low doses of monensin for lambs fed diets containing high level of ground flint corn. Sci. Agric. 78, 1–8. https://doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0263

Resende-Junior, J.C., Alonso, L.S., Pereira, M.N., Roca, M.G., Duboc, M.V., Oliveira, E.C., Melo, L.Q., 2006. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep. Brazilian J. Vet. Res. Anim. Sci. 43, 526–536.

Ricardo, H.A., Fernandes, A.R.M., Mendes, L.C.N., Oliveira, M.A.G., Protes, V.M., Scatena, E.M., Roça, R.O., Athayde, N.B., Girão, L.V.C., Alves, L.G.C., 2015. Carcass traits and meat quality differences between a traditional and an intensive production model of market lambs in Brazil: Preliminary investigation. Small Rumin. Res. 130, 141–145. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.07.007

Russo, G.L., 2009. Dietary n - 6 and n - 3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. Biochem. Pharmacol. 77, 937–946. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.10.020

Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, F., 2002. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. Livest. Prod. Sci. 77, 187–194. https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00059-3

Scollan, N.D., Price, E.M., Morgan, S.A., Huws, S.A., Shingfield, K.J., 2017. Can we improve the nutritional quality of meat? Proc. Nutr. Soc. 1–16. https://doi.org/10.1017/S0029665117001112

Sugier, D., Sugier, P., Kowalski, R., Kołodziej, B., Olesińska, K., 2017. Foliar boron fertilization as factor affecting the essential oil content and yield of oil components from flower heads of Arnica montana L. and Arnica chamissonis Less. cultivated for industry. Ind. Crops Prod. 109, 587–597. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.014

Sugier, P., Jakubowicz-Gil, J., Sugier, D., Kowalski, R., Gawlik-Dziki, U., Kolodziej, B., Dziki, D., 2020. Chemical Characteristics and Anticancer Activity of Essential Oil from Arnica Montana L. Rhizomes and Roots. Molecules 25, 1284. https://doi.org/doi:10.3390/molecules25061284

Tedeschi, L.O., Gorocica-Buenfil, M.A., 2018. An assessment of the effectiveness of virginiamycin on liver abscess incidence and growth performance in feedlot cattle: A comprehensive statistical analysis. J. Anim. Sci. 96, 2474–2489. https://doi.org/10.1093/jas/sky121

Torres, R.N.S., Moura, D.C., Ghedini, C.P., Ezequiel, J.M.B., Almeida, M.T.C., 2020. Meta-analysis of the effects of essential oils on ruminal fermentation and performance of sheep. Small Rumin. Res. 189, 106148. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106148

Ueno, H., Gonçalves, P.C., 1988. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes, 4th ed. Japan International Cooperation, Tokio.

Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T., 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. Lancet 338, 985–992. https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-M

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2

Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, A.R.J., Fonseca, A.J.M., Dewhurst, R.J., 2006. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. Anim. Feed Sci. Technol. 131, 389–417. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.017

Weidner, S.J., Grant, R.J., 1994. Soyhulls as a replacement for forage fiber in diets for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 77, 513–21. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)76979-4

Wiener, I., Inoue, K., Fagan, C.J., Lilja, P., Watson, L.C., Thompson, J.C., 1981. Release of cholecystokinin in man. Correlation of blood levels with gallbladder contraction. Ann. Surg. 194, 321–327. https://doi.org/10.1097/00000658-198109000-00010

Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A. V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M., 2004. Effects of fatty acids on meat quality: A review. Meat Sci. 66, 21–32. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00022-6

Woodford, S.T., Murphy, M.R., 1988. Effect of Forage Physical Form on Chewing Activity, Dry Matter Intake, and Rumen Function of Dairy Cows in Early Lactation. J. Dairy Sci. 71, 674–686. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79606-X

Yang, Z., Miyahara, H., Hatanaka, A., 2011. Chronic administration of palmitoleic acid reduces insulin resistance and hepatic lipid accumulation in KK-A y Mice with genetic type 2 diabetes. Lipids Health Dis. 10, 120. https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-120

Ye, D., Karnati, S.K.R., Wagner, B., Firkins, J.L., Eastridge, M.L., Aldrich, J.M., 2018. Essential oil and monensin affect ruminal fermentation and the protozoal population in continuous culture. J. Dairy Sci. 101, 5069–5081. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13646