



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA.

**DIGESTIBILIDADE TOTAL E SÍNTESE MICROBIANA DE NOVILHOS EM  
CONSUMO LIMITADO, RECEBENDO SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE  
COPAÍBA EM ASSOCIAÇÃO À MONENSINA DE SÓDICA.**

MAIARA APARECIDA FLORES BALBUENO

Trabalho apresentado a banca examinadora, como parte  
dos requisitos para obtenção da graduação em Bacharel  
em Zootecnia pela Universidade Federal da Grande  
Dourados.

**DOURADOS-MS  
2015**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA.

**DIGESTIBILIDADE TOTAL E SÍNTESE MICROBIANA DE NOVILHOS EM  
CONSUMO LIMITADO, RECEBENDO SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE  
COPAÍBA EM ASSOCIAÇÃO À MONENSINA DE SÓDICA.**

MAIARA APARECIDA FLORES BALBUENO  
Graduanda em Zootecnia- UFGD/FCA.

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e  
Buschinelli de Goes

Trabalho apresentado à banca examinadora, como parte dos  
requisitos para obtenção da graduação em Bacharel em  
Zootecnia pela Universidade Federal da Grande Dourados.

**DOURADOS-MS  
2015**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

B172d	<p>Balbueno, Maiara Aparecida Flores.</p> <p>Digestibilidade total e síntese microbiana de novilhos em consumo limitado, recebendo suplementação de óleo de copaíba em associação à monensina de sódica. / Maiara Aparecida Flores Balbueno. – Dourados, MS : UFGD, 2015. 32f.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Novilhos. 2. Suplementação. 3. Monensina. 4. Óleo de copaíba. I. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD – 636.2085</p>
-------	---

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.**

**©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.**



**“Digestibilidade Total e Síntese microbiana de novilhos em consumo limitado, recebendo suplementação de óleo de copaíba em associação à monensina de sódica.”**

por

**MAIARA APARECIDA FLORES BALBUENO**

Trabalho apresentado à banca examinadora, como parte dos requisitos para obtenção da graduação em Bacharel em Zootecnia.

Aprovado em 04/11/15

---

Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes  
UFGD/FCA

---

Jefferson Rodrigues Gandra  
UFGD/FCA

---

Maria Gizelma de Meneses Gressler  
UFGD/FCA

*Quantas vezes eu estive  
Cara a cara com a pior metade?*

*A lembrança no espelho  
A esperança na outra margem  
Quantas vezes a gente sobrevive*

*À hora da verdade?*

*Na falta de algo melhor*

*Nunca me faltou coragem*

*Se eu soubesse antes o que sei agora*

*Erraria tudo exatamente igual.*

*Tenho vivido um dia por semana*

*Acaba a grana, mês ainda tem*

*Sem passado nem futuro*

*Eu vivo um dia de cada vez*

*Quantas vezes eu estive*

*Cara a cara com a pior metade?*

*Quantas vezes a gente sobrevive*

*À hora da verdade?*

*Se eu soubesse antes o que sei agora*

*Iria embora antes do final.*

*Surfando karmas e DNA*

*Eu não quero ter o que eu não tenho*

*Eu não tenho medo de errar!*

*Surfando karmas e DNA*

*Não quero ser o que eu não sou*

*Eu não sou maior que o mar*

*Na falta do que fazer, inventei a minha liberdade!*

*Surfando karmas e DNA.*

***(Surfando karmas e Dna- Engenheiros do hawaii)***

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por esse momento, pela saúde e por poder completar mais uma etapa na minha vida.

No âmbito familiar, pelo apoio total que tenho em tudo do meu pai, URBANO CEZAR SANCHES BALBUENO que apesar de todos os acontecimentos foi muito paciente comigo e que vive junto a mim o sonho de me ver concluindo a graduação. Desde de criança meu pai foi a inspiração da minha vida e toda vez que eu me pego em momentos de desânimos eu encontro a força que eu preciso na figura dele, como em toda minha família, minha mãe MARIA APARECIDA FLORES BALBUENO, meu irmão MARION CEZAR FLORES BALBUENO, todos me ensinaram o verdadeiro sentido da união, da amizade, do respeito e companheirismo dentro de casa e me sinto eternamente grata por isso.

No âmbito universitário, ao meu orientador RAFAEL HENRIQUE DE TONISSI E BUSCHINELLI DE GOES que foi paciente, amigo, e sempre me ajudou nas decisões acadêmicas, e se tem uma palavra pra descrever a nossa relação é motivação, a partir do momento que eu comecei a conviver com a área de nutrição, com seus ensinamentos e disposição em me ajudar a tomar o melhor caminho, me senti totalmente motivada no que estava estudando e tive certeza que era isso que eu queria fazer a minha vida toda, espero encontrar em outros momentos da vida pessoas assim.

Aos meus colegas de grupo de pesquisa, que se dispuseram a ajudar na parte experimental e laboratorial, RAQUEL TENÓRIO DE OLIVEIRA, MIRIÃ MEDINA DE ÁVILA, MAYARA MITIKO, PAULO ALVES DA CUNHA JUNIOR, MAIKON RIVAROLA BRITES, CHARLES JHONNATAN DOS SANTOS SOUZA, BRUNO GOMES CAVALCANTE, HEITOR PAULO LEANDRO DA SILVA PAZ, LUCIANA RODRIGUES DE LIMA, ALINE ORTEGA CAMACHO DIAS, AMANNA GONZAGA JACAÚNA, ETELVITOR LEITE.

A técnica do laboratório do laboratório de nutrição animal, por sempre estar de prontidão para qualquer dúvida, MARIA GIZELMA DE MENEZES GRESSLER, e aos meus colegas de curso e laboratório que me incentivaram de alguma forma, me tiraram dúvidas, como um todo, MARIANA VIEGAS DOS SANTOS, HAYNE MAYUMI CARIOLANO ARAKI.

A pessoa que conviveu comigo no momento difícil de escrever esse trabalho, e em tudo que envolve esse final de curso, que me deu suporte emocional, RAPHAEL SECCO BALOTI

ROSA, namorado, amigo, companheiro, que tem de aguentar meus choros e com quem eu espero dividir muitos momentos de alegria também.

Á Deus, Obrigada!



## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS -----	<b>VIII</b>
RESUMO -----	<b>9</b>
ABSTRACT -----	<b>10</b>
1. Introdução -----	<b>11</b>
2. Revisão de Literatura	
2.1. Microbiota Ruminal-----	<b>12</b>
2.2. Utilização de Ionóforos-----	<b>14</b>
2.3. Óleos Essenciais e Funcionais-----	<b>18</b>
2.4. Óleo de copaíba-----	<b>21</b>
3. Materiais e Métodos -----	<b>22</b>
4. Resultados e Discussão -----	<b>26</b>
5. Conclusão -----	<b>28</b>
6. Literatura Citada -----	<b>28</b>

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 Composição percentual de suplementos utilizados -----	<b>23</b>
TABELA 2 composição bromatológica da silagem de milho utilizada -----	<b>23</b>
TABELA 3 caracterização química (sesquiterpenos, diterpenos e ácidos graxos) do óleo de copaíba utilizado no experimento -----	<b>24</b>
TABELA 4. Consumo de matéria seca e de nutrientes em (g/dia) de novilhos mantidos em confinamento recebendo monensina e óleo de copaíba -----	<b>26</b>
TABELA 5. Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes de novilhos confinados suplementados com monensina, óleo de copaíba isoladamente ou em associação -----	<b>27</b>
TABELA 6. Teores médios de derivados de purinas (mmol/L) e síntese microbiana (g/dia) em novilhos suplementados com monensina, óleo de copaíba ou em associação -----	<b>28</b>

## RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar novilhos com consumo restrito, suplementados com monensina, óleo de copaíba e associação. Os parâmetros avaliados foram: digestibilidade total, excreção de derivados de purina e síntese microbiana. Foram utilizados quatro novilhos da raça Jersey, castrados, vermifugados e providos de cânula ruminal. Os animais foram mantidos em baias individuais recebendo Silagem de milho e suplementação proteica com 38%PB. O delineamento experimental utilizado foi quadrado latino 4x4. Os tratamentos avaliados foram: silagem de milho + suplemento proteico (controle), silagem de milho + suplementação proteico com monensina, silagem de milho + suplemento proteico com óleo de copaíba, silagem de milho + suplemento proteico com monensina e óleo de copaíba (associação). A quantidade de monensina sódica inclusa foi de 0,9 mg/kg PV; e a dose de óleo de copaíba utilizada foi de 1,0 g/Kg de PV. Como o óleo de copaíba apresenta uma alta densidade foi diluído em álcool isopropílico em uma proporção de 0,5g de óleo de copaíba para 7 mL de álcool, para uma melhor pulverização. A associação entre óleo de copaíba e monensina alterou negativamente a digestibilidade da matéria seca e da FDN, porém se atuarem de forma isolada o efeito foi positivo para a proteína bruta. Não ocorreram efeitos para a excreção de derivados de purina, para a monensina e a associação de monensina + óleo de copaíba. O óleo de copaíba aumentou a excreção de Purinas totais e a associação entre monensina e copaíba, alterou negativamente a síntese de proteína microbiana dos animais. A monensina e o óleo de copaíba em associação reduz a matéria seca da digestibilidade e nitrogênio e proteína bruta da síntese microbiana, já utilizadas isoladamente obtiveram comportamentos parecidos na digestibilidade e o óleo de copaíba aumentou as purinas totais e as purinas absorvidas na síntese microbiana.

**Palavras-chave:** Novilhos, suplementação, monensina, óleo de copaíba

## ABSTRACT

The study aimed to evaluate steers with restricted intake, supplemented with monensin, copaiba oil and association. The parameters evaluated were: total digestibility, excretion of purine derivatives and microbial synthesis. Four Jersey's steers were used and kept in individual paddocks receiving corn silage and protein supplementation with 38% CP. The experimental design was 4x4 Latin square. The treatments were: corn silage + protein supplement (control), corn silage + protein supplementation with monensin, corn silage + protein supplement with copaiba oil, corn silage + protein supplement with monensin and copaiba oil (association). The included amount of monensin was 0.9 mg/kg BW; and copaiba oil was 1.0 g/kg BW. Copaiba oil was diluted with isopropyl alcohol in a ratio of 0.5g copaiba oil to 7 ml of ethanol, to better spraying. The association between copaiba oil and monensin negatively altered the digestibility of dry matter and NDF, but if they act in isolation the effect was positive for crude protein. There were no effects on the excretion of purine derivatives, to the combination of monensin and monensin + copaiba oil. Copaiba oil increased excretion of total Purines and the association between monensin and copaiba negatively altered the microbial protein synthesis animals. The monensin and copaiba oil in combination reduces the dry matter digestibility and crude protein nitrogen and microbial synthesis, as used alone obtained similar behavior in digestibility and copaiba oil increased total purines and purines absorbed into the microbial synthesis.

**Key words:** steers, supplementation, monensin, copaiba oil.

## 1.Introdução

Com a crescente demanda mundial por produtos de origem animal e os níveis de exportação de carne do Brasil subiram consideravelmente nos últimos anos há a necessidade de recursos para atendimento da demanda. Visando melhorar a eficiência dos animais de corte criou-se aditivos alimentares para acelerar o processo de engorda dos animais com dietas ricas em carboidratos e proteína.

Há vários Ionóforos disponíveis no mercado, porém os mais utilizados no Brasil são a Monensina Sódica e a Lasalocida Sódica, apesar da eficiência que os Ionóforos apresentam há alguns tipos de restrição sobre o produto. A Monensina por exemplo deve ser oferecida em pequenas quantidades para o animal, pois uma grande quantidade no organismo pode acarretar em intoxicação do animal. E apesar de não confirmado existe a preocupação de que exista algum risco para a saúde humana.

Os Ionóforos são conhecidos por auxiliar o processo de fermentação ruminal, tem sido bastante difundido e estudo nos últimos tempos por pesquisadores que se dedicam à nutrição animal, antes utilizado na atividade avícola para combate de doenças causadas por bactérias e logo em seguida utilizadas em bovinos de corte, onde se tem o propósito de modificar a fermentação ruminal, proporcionando alterações na população bacteriana ruminal, através de seleção de bactérias Gram negativas.

As Bactérias Gram negativas são responsáveis pela produção de ácido propiônico, ou seja, melhora a eficácia da digestibilidade de dietas altamente concentradas, o que propicia melhor conversão alimentar e maior rendimento do animal, com menor consumo alimentar.

Todos os carboidratos digeridos no rúmen, transformam-se em ácidos graxos voláteis (AGVs) que são a fonte de energia mais importante para o bovino: os principais são o acético (C2), o propiônico (C3) e o butírico (C4) e suas concentrações e porções relativas dependem da dieta (LUCCI, 1997).

Com dietas à base de forragem, o pH se mantém estável devido a lenta digestão da fibra. As variações destas proporções com dietas à base de forragens são bruscas e não podem ser previstas. As mudanças que a taxa de fermentação sofre com dietas ricas em concentrados são mais fáceis de prever, pois a microflora é menos variada nas dietas à base de forragem (CHURCH, 1993).

A proporção acetato: propionato é a utilizada para comparar dietas e prever um valor nutritivo relativo. Em geral, quando na dieta se aumenta os níveis de celulose e hemicelulose

em relação aos níveis de carboidratos solúveis e amidos, também se aumenta a proporção acetato: propionato.

Por este motivo a união Europeia através do Regulamento nº 1831/2003 determinou a proibição da utilização de antibiótico e coccidiostáticos como aditivos alimentares para bovinos. (Gomes, 2009). Esta medida pretende prevenir os efeitos de uma possível relação entre a utilização de antibióticos na nutrição animal e o aumento da incidência de microorganismos resistentes, observada na medicina humana, (Marino et al., 2008).

Apesar da U.E. não ser o principal importador da carne bovina brasileira, houve a necessidade de criar alternativas para que a produtividade de animais criados em sistema de confinamento não fosse prejudicada se caso houvesse a proibição de antibióticos na produção da carne bovina nos principais países importadores, e também como um meio de produção alternativa que se utilizasse de produtos naturais que obtivesse os mesmos resultados no produto final.

Assim surgiu os estudos de óleos funcionais e essências na nutrição de ruminantes, devido suas propriedades antibacterianas que poderiam selecionar os microorganismos do rumem. Existem a evidência que muitos destes óleos reduzem a taxa de deaminação de aminoácidos, a taxa de produção de amônia e o número de bactérias hiperprodutoras de amônia, com aumento no escape ruminal de N para o intestino (McIntosh, et al., 2003).

Portanto objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da adição de óleo de copaíba em associação a Monensina sódica sobre a digestibilidade total e síntese microbiana de novilhos mantidos em consumo restrito de nutrientes.

## **2.Revisão de Literatura**

### **2.1Microbiota Ruminal**

O rúmen representa um complexo ecossistema composto por microrganismos como bactérias, fungos, protozoários ciliados e flagelados. Esses microrganismos produzem enzimas capazes de degradar a celulose das plantas, o que fornece energia ao seu hospedeiro em uma relação mutualística (ARCURI et al., 2006).

De acordo com Fernando et al. (2010), o fornecimento de dietas com elevada proporção de concentrado (60 a 80 %) durante a adaptação ao confinamento aumentou as populações de *Megasphaera elsdenii*, *Streptococcus bovis* e *Selenomonas ruminantium*. Por outro lado, *butyvirio fibrosolvans* e *fibrobacter succinogenes* foram 40 e 20 vezes menores,

respectivamente, quando comparadas àquelas encontradas em animais recebendo dieta com alta forragem.

O aumento de carboidratos fermentáveis no rúmen leva um aumento na glicose, ou seja, energia (GALYEN; RIVERA, 2003), que quando em excesso, estimulam a produção de lactato, principalmente através das bactérias *Streptococcus bovis*.

A presença de glicose no líquido ruminal pode favorecer o crescimento de *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus sp.*, os quais promovem conversão de glicose/piruvato em ácido láctico, o que afeta o pH ruminal e reduz a adesão dos microorganismos celulolíticos, comprometendo a digestão da fibra em detergente neutro (SANTOS, 2011).

O baixo pH ocorre em casos de acidose clínica, onde há maior acúmulo de ácido láctico, devido ao aumento de atividade de bactérias fermentadoras de ac. Láctico e glicose no rúmen, a concentração de ac. Láctico dentro do rúmen, não deve exceder 5 mmol/L, considerando o limite para pré-disposição à acidose aguda (OWENS et al., 1998).

As *Archaea metanogênicas*, responsáveis pela produção de CH<sub>4</sub>, formam um grupo distinto de microrganismos, possuindo co-fatores (coenzima M, F420, F430) e lipídeos (ésteres de isopranyl glicerol) únicos. Apesar de várias espécies metanogênicas terem sido isoladas em diversos habitats anaeróbios, somente duas, *Methanobrevibacter ruminantium* e *Methanosarcina sp* foram encontradas em grande número no rúmen. A conversão anaeróbia da matéria orgânica em CH<sub>4</sub> no rúmen envolve um consórcio de microrganismos ruminais, com a etapa final realizada pelas metanogênicas (McALLISTER et al, 1996). Para Joblin (1999), a gestão do H<sub>2</sub> no rúmen é a chave para controlar as emissões de CH<sub>4</sub> pelos ruminantes.

No rúmen, as *Archaea* são encontradas associadas a protozoário ciliados e justapostas com bactérias. Espécies metanogênicas tem grande afinidade em sintetizar CH<sub>4</sub> a partir de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> para gerar suas necessidades energéticas para o crescimento (Miller 1995). CH<sub>4</sub> é um subproduto da fermentação ruminal, e sua produção serve como principal “dreno” de hidrogênio (JOHNSON e JOHNSON, 1995).

A parede celular destes microrganismos é composta por pseudomureína, proteína, glicoproteína ou heteropolissacarídeos e a sequência de nucleotídeos indica uma evolução inicial distinta das bactérias (ISHINO et al., 1998). Segundo Nagajara et al. (1986), os protozoários ciliados têm um papel significativo no metabolismo ruminal do amido e do ácido láctico no rúmen. Isso se deve ao uso dos açúcares e amido como substratos pelos protozoários, impedindo que esses produtos sejam utilizados na fermentação microbiana.

(NEWBOLD; CHAMBERLAIN; WILLIAMS, 1986). Os protozoários ciliados são mais sensíveis de que as bactérias às flutuações e reduções do pH ruminal, onde a queda no número destes pode ser um indicativo de acidose. (GOAD, GOAD; NAGARAJA, 1998).

Os protozoários ciliados podem variar entre 104 até 106 ciliados por mililitro de conteúdo ruminal (KAMRA, 2005). Diversos fatores influenciam o funcionamento do ambiente ruminal, entre os quais se destacam a dieta e o pH (NOGUEIRA FILHO et al., 2001). A manipulação de dietas com aditivos tem sido foco de estudos para a diminuição da produção do gás metano, sintetizado. Protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos pelos microrganismos do rúmen, para a melhoria do desempenho produtivo de ruminantes (DiLORENZO et al., 2006).

## 2.2 Utilização de Ionóforos

Nos últimos anos, diversos aditivos alimentares foram testados, entre eles os ionóforos, que foram originalmente desenvolvidos como coccidiostáticos, amplamente utilizados na avicultura. Os ionóforos são produtos da fermentação de várias espécies de *Streptomyces* (fungo), sendo que os mais empregados na alimentação de ruminantes são: Monensina, Lasalocida, Narasina e Salinomocina. Os ionóforos tem ação contra bactérias gram-positivas, permitindo uma seleção de microorganismos do rumem. A ação dos ionóforos no rúmen ocorre pelas mudanças na população microbiana, selecionando as bactérias gram-negativas produtoras de ácido succínico ou que fermentam ácido láctico e inibindo as gram-positivas produtoras de ácidos acético, butírico, láctico e H<sub>2</sub> (REIS et al.,2006).

O mecanismo de ação dos ionóforos sobre as bactérias está relacionado um processo chama bomba iônica, que regula o balanço químico entre o meio interno e externo da célula. Os ionóforos ao se ligarem à membrana celular das bactérias e protozoários e, provavelmente dos fungos ruminais, facilitam os movimentos de cátions através da membrana celular. Essas reações culminam em uma reduzida concentração intracelular K<sup>+</sup> intracelular, baixo pH e maior concentração intracelular de Na<sup>+</sup>. Nesse caso, as bactérias gram-positivas são forçadas a utilizar os sistemas de transporte celular para dissipar o H<sup>+</sup> e o Na<sup>+</sup> intracelular na tentativa de manter o equilíbrio na célula, com o gasto de 1 ATP por próton mobilizado. Esse processo juntamente com a baixa concentração de K<sup>+</sup> intracelular, reduz as reservas energéticas e a taxa de síntese de proteína com conseqüente menor capacidade de divisão celular. Como conseqüência, a bomba iônica não opera eficientemente, provocando um desequilíbrio e devido a maior concentração de cátions dentro da célula, ocorre aumento da pressão osmótica,



a água penetra em excesso e com isso a célula “incha” tendendo a romper-se. Desse modo, as bactérias acabam morrendo ou assumem um nicho sem expressão ruminal (REIS et al., 2006).

De acordo com Rizzo (2008) não há resultados conclusivos que comprovem que os antimicrobianos utilizados nas dietas causam redução na contagem total dos microorganismos no trato digestivo, porém existem evidências que eles são capazes de promover a seleção de organismos adaptados ao ambiente modificado. As alterações na microbiota beneficiam os animais por diferentes mecanismos, tais como: economia de nutrientes, controle de doenças subclínicas, efeito protetor contra a produção de toxinas no trato gastrointestinal e efeito metabólico. (SOUZA, 2010)

Esta alteração na composição do ambiente ruminal tem como objetivos alguns benéficos ao animal hospedeiro entre eles podemos citar a melhor degradação da fibra, fermentação do lactato e conversão de compostos nitrogenados não proteicos em proteína microbiana, enquanto os processos que deveriam ser minimizados incluem a produção de metano, degradação da proteína e absorção de amônia (NAGARAJA et al., 1997).

Avaliando as vantagens que o uso de Ionóforos proporciona ao rebanho, podemos considerar que o uso de Ionóforos se for utilizados nas devidas medidas proporciona um ganho na produção e lucro ao produtor.

Segundo Zanine et al. (2006) a monensina é um antibiótico utilizado inicialmente como coccidicida em aves nos Estados Unidos e que vem sendo utilizado a pouco tempo como promotor de crescimento para ruminantes, sendo do grupo dos ionóforos cuja principal ação é destruir as bactérias Gram-positivas. Dentre as bactérias Gram-positivas estão as bactérias proteolíticas, as formadoras do ácido acético e as formadoras de ácido láctico. A alimentação com monensina resulta também no aumento das concentrações de propionato.

A Monensina sódica é o Ionóforo mais utilizado no Brasil e por este motivo existem muitas pesquisas relacionadas ao seu uso. Segundo Araujo (2010), a Monensina já é utilizada comercialmente há quatro décadas na produção de ruminantes e seu uso melhora a eficiência alimentar e diminui a produção de metano (RUSSEL;STROBEL,1989).

A produção de gás metano está relacionada com a eficiência da fermentação ruminal, consequentemente perda de energia no sistema de produção, o metano é também considerado um dos principais gases de efeito estufa, sendo responsável por cerca de 15% do aquecimento global (COTTON & PIELKE, 1995). Deve-se considerar que os ruminantes respondem pela produção de 22% desse gás através da fermentação entérica e contribuem com 3,3% dos gases de efeito estufa (ZOTTI & PAULINO, 2009), que pode ser considerado um número

significativo. Assim a utilização de monensina sódica para minimizar a emissão desses gases na bovinocultura, e diminuir o impacto ambiental causado vem se promovendo cada vez mais, ao passar dos anos (REIS et al.,2006).

A melhoria da utilização de proteína também é associada ao uso de Monensina sódica. Basicamente, tal benefício deve-se ao fato de as bactérias proteolíticas e fermentadoras de aminoácidos serem sensíveis aos Ionóforos, o que diminui a concentração de N-amoniaco no líquido ruminal (ARAUJO,2010).

Em geral, observa-se redução na concentração de amônia ruminal, tanto in vitro com in vivo. Várias pesquisas foram realizadas para caracterizar o efeito da monensina no metabolismo do N chegando a conclusão que quando incubamos o líquido ruminal com a monensina sódica temos o efeito sobre o metabolismo de N, diminuindo a degradação de proteína, o acúmulo de amônia e o N microbiano (REIS et al,2006). Duas espécies de bactérias identificadas pela grande capacidade de produção de amônia ruminal (RUSSEL et al., 1988), apesar de gram-negativas, mostraram-se sensíveis a monensina. (REIS et al,2006).

A digestibilidade in vitro é afetada pela monensina, prejudicando a digestão da matéria orgânica, proteína e celulose, mas quando in vivo a digestibilidade não é afetada, provavelmente devido ao maior tempo de retenção no rúmen (REIS et al, 2006.). Em ruminantes alimentados com dietas ricas em concentrados, a digestibilidade da fibra frequentemente tem sido aumentada pela monensina e esse aumento pode ser resultado do maior tempo de retenção da fibra no rúmen que favorece a digestão microbiana da mesma (MARCURI et al.,2014).

O pH ruminal é influenciado principalmente pela produção de saliva. Por isso, animais alimentados com dietas contendo elevada porcentagem de alimentos volumosos normalmente apresentam pH ruminal sempre próximo à neutralidade (OLIVEIRA et.al,2005). Porém dietas ricas em Grãos tem menor produção de saliva, portanto menor pH o que aumenta a população das bactérias *Streptococcus bovis* o que diminui ainda mais o pH ruminal por produzir ácido láctico, como a monensina inibe a produção destas bactérias, controla a queda de pH evitando problemas de acidose (RUSSELL, 1996)

Além disto existe outros fatores que fazem com que ruminantes alimentados com dietas ricas em concentrados tendam a apresentar diminuição do pH do conteúdo ruminal, podendo ocorrer acidose. Porém os animais suplementados com monensina apresentam aumento do pH ruminal. Salles & Lucci (2000) encontrou em seu trabalho níveis crescentes de pH ruminal ao se aumentar os níveis de monensina incluídos na ração de bezerros

Holandeses, Resultado semelhante com Nagaraja et al. (1982) o que diminui os riscos de acidose em grandes confinamentos, por exemplo.

Deve haver uma adaptação ao consumo de monensina, e as quantidades fornecidas devem estar de acordo com as recomendações do fabricante. Para animais em confinamento, recomenda-se fornecer cerca de 5 g a 10 g de monensina sódica/tonelada de alimento no período inicial, estabilizando a concentração ao redor de 25 g a 30 g/tonelada (NICODEMO,2001). Tal procedimento melhora ganho de peso, conversão alimentar e ingestão de alimento, se comparado ao início da suplementação com 30 g/tonelada além de diminuir os riscos de intoxicação do animal. Caso os animais parem de receber a suplementação com monensina por mais de três dias a adaptação deve ser realizada novamente. Além de se ter melhores resultados com o ganho de peso também a adaptação dos animais diminui os riscos de intoxicação pela monensina.

O uso de monensina em sistema de pastejo também melhora o desempenho dos animais, porem assim como no sistema de confinamento é necessária uma adaptação ao consumo começando com uma quantidade de 50mg e aumentar gradativamente até 200 mg/cabeça/dia em 450 g de suplemento (POTTER et al., 1984), Tabela 1. Melhora percentual no desempenho de bovinos suplementados em relação aos não suplementados com monensina. Níveis de uso: 50-200 mg/cabeça/dia em 450 g de ração, (NICODEMO, 2001).

Apesar de todas as vantagens observadas sobre o uso de monensina sódica na alimentação de ruminantes, existe a preocupação sobre a possibilidade de se deixar resíduo na carne ou no leite de animais alimentados com este aditivo. A monensina é rapidamente excretada após sua ingestão, com mínimo acúmulo nos tecidos animais. Mas existe possibilidade de que a taxa de excreção metabólica seja excedida, e efeitos tóxicos da monensina surjam em animais recebendo dieta com monensina ou em seres humanos consumindo tecidos desses animais (REIS et al., 2006).

Apesar de pesquisas mostrarem que não há motivos para esta preocupação excessiva, e não existirem pesquisas que comprovem o risco de contaminação em humanos. Gandra (2009) observou em seu experimento que ao adicionar níveis crescentes de monensina sódica até 48mg/kg MS na dieta de vacas leiteiras em lactação, que os resíduos do aditivo detectado no leite estavam dentro dos limites estabelecidos pela FAO/WHO. Santos (2011) ao realizar um trabalho semelhante concluiu que a utilização de monensina sódica na dieta de vacas

leiteiras no terço médio da lactação influencia o desempenho produtivo, e não resulta em resíduos no leite independentemente da dose utilizada.

Mesmo com todos estes indicativos que o uso de monensina sódica não traz riscos com a contaminação, a União Europeia por uma medida de precaução através do Regulamento nº 1831/2003 determinou a proibição da utilização de antibiótico e coccidiostáticos como aditivos alimentares para bovinos. Sendo assim também houve proibição da exportação de carne de animais que foram suplementados com este tipo de aditivo. Visto isso houve a necessidade de se utilizar alternativas, para que a exportação da carne brasileira não fosse prejudicada.

A partir daí os pesquisadores têm concentrado esforços na busca de estratégias para evitar o uso de aditivos antibióticos na produção animal. Produtos naturais têm sido estudados para manipular a fermentação ruminal e aumentar a eficiência de produção (REIS et al., 2006).

### **2.3 Óleos funcionais e essenciais**

Os Óleos Essenciais (OES), derivados de plantas utilizadas como condimentos, representam complexas misturas de substâncias naturais, tradicionalmente utilizadas para acentuar gosto ou aroma de alguns alimentos. Constituem-se de substâncias, cujos componentes incluem hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos fixos, em diferentes concentrações, em que um composto farmacologicamente ativo é majoritário (SIMÕES & SPITZER, 2000).

Com o desenvolvimento de novas técnicas de produção destes e o desenvolvimento da Química, ocorreu melhoria na obtenção de óleos essenciais e extrato de plantas (Rates, 2001). Atualmente São descritas como alternativa para o uso de antibióticos promotores de crescimento na indústria de produção animal (CALSAMIGLIA et al., 2007).

Em contrapartida óleos essenciais e funcionais variam quanto ao potencial de alterar a fermentação e população microbiana ruminal (PATRA; YU, 2012). Os óleos essenciais dos condimentos são misturas complexas de diferentes compostos, que contribuem para as propriedades antimicrobianas bem como dando ao alimento características de sabor aroma especiais (PARRY, 1962; ARIDOGAN et al., 2002).

Bactérias Gram-positivas são mais susceptíveis a propriedade antibacteriana dos óleos funcionais do que as gram-negativas, pois estas possuem uma membrana externa que contém lipossacarídeos formando uma superfície hidrofílica, isso cria uma barreira à permeabilidade

de substâncias hidrofóbicas, como óleos essenciais (DORMAN, DEANS, 2000; BURT, 2004).

É provável que a sua atividade antimicrobiana não esteja envolvida com um mecanismo de ação específico, mas sim envolvendo vários alvos na célula bacteriana (BENCHAAAR; MCALLISTER, CHOUINARD, 2008). A ideia inicial, e a mais aceita, é que os óleos essenciais desenvolvem a sua ação contra as bactérias através da interação com a membrana celular (GRIFFIN et al, 1999; ULTEE; KETS; SMID, 1999; DORMAN; DEANS, 2000), incluindo transporte de elétrons, gradientes de íons, translocação de proteína, fosforilação e outras reações dependentes de enzimas.

Uma parte da atividade, pelo menos, se deve à natureza hidrofóbica dos hidrocarbonetos cíclicos, o que permite que estes interajam com as membranas celulares e acumulem-se na bicamada lipídica de bactérias, ocupando um espaço entre as camadas. Esta interação provoca alterações conformacionais na membrana estrutural, resultando na sua fluidificação e expansão (GRIFFIN et al., 1999). A perda da estabilidade da membrana celular resulta na fuga de íons, o que reduz o gradiente iônico transmembranar. Na maioria dos casos, as bactérias podem contrabalancear esses efeitos por meio de bombas iônicas prevenindo a morte celular. No entanto, grandes quantidades de energia são desviadas para esta função e o crescimento bacteriano é diminuído (GRIFFIN et al., 1999; ULTEE; KETS; SMID, 1999; COX; MARKHAM, 2001).

Os óleos essenciais caracterizam-se por reduzir a taxa de deaminação de aminoácidos, a taxa de produção de amônia e o número de bactérias hiperprodutoras de amônia, com aumento no escape ruminal de N para o intestino (FRANÇA, 2014).

Estudo *in vitro* de CALSAMIGLIA et al. (2007), evidenciam que o uso de óleos essenciais acima de 500 mg/L tem provocado resultados prejudiciais. Porém, doses moderadas de 50 e 500 mg/L de alguns óleos essenciais e seus componentes ativos são capazes de modificar favoravelmente a fermentação ruminal, alterando o metabolismo de proteínas, perfil de ácidos graxos e a metanogênese.

O uso de óleos funcionais, mistura de óleo de mamona e líquido da casca de caju apresentou o potencial e substituição de ionóforos quando avaliados em bovinos confinados (PUREVJAV et al., 2013), e a concentração de AGCC ( WATANABE et al. 2010).

De Wit et al. (1979) estudaram o efeito inibitório dos óleos essenciais de alho e cebola sobre produção da toxina botulínica, verificando que, na concentração de 1500 µg/g, há efeito na produção da toxina botulínica tipo A, mas não na produção das toxinas tipo B e E.

Huhtanen (1980) avaliou a inibição do crescimento de *clostridium botulinum* pela ação de 33 extratos alcoólicos de condimentos, demonstrando que louro, pimenta- preta e noz-moscada foram agente antibotulínicos muito eficientes.

Garg e Garg (1980) verificaram que, dentre os óleos de gerânio, gengibre, cedro e citronel, os dois primeiros foram os mais eficientes contra nove espécies de bactérias patogênicas.

Os estudos envolvendo e extratos de plantas na alimentação animal aumentam significativamente na Europa devido à busca de alternativas que substituam os antibióticos como melhoradores de desempenho. No Brasil, porém o assunto ainda é recente e o número de trabalhos é escasso (RIZZO, 2008).

Além da atividade antimicrobiana, outras propriedades biológicas dos extratos de plantas tendem a ser exploradas. Dentre elas, as vantagens, com o fato de que determinados óleos essenciais melhoram a digestibilidade devido a efeitos na atividade de enzimas digestivas ou na concentração de sucos gástricos/ digestivos (SCHEUERMANN; CUNHA JUNIOR, 2005).

Torna-se evidente, portanto, a necessidade de estudos de produtos alternativos que possam substituir os antibióticos na alimentação animal, sem causar perdas produtivas e qualidade dos produtos finais. Os prováveis substitutos promotores de crescimento devem manter as ações benéficas de antibióticos e eliminar as indesejáveis, como a resistência bacteriana (LODDI et al.,2000).

Os extratos provenientes de produtos vegetais isolados ou em misturas isentas de matérias estranhas, utilizado como temperos, flavorizantes e aromatizantes de alimentos, estes são normalmente utilizados na dieta de animais na forma de óleo resina ou óleo essenciais. O óleo resina é obtido por percolação com a utilização de solventes e resulta numa substância líquida ou pastosa constituída por resina e substâncias químicas e orgânicas, que dão ao extrato coloração e viscosidade específicas. (RIZZO, 2008).

Estudos fitoquímicos recentes mostram que os óleos de copaíba verdadeiros são constituídos essencialmente de sesquiterpenos e diterpenos, sendo o ácido capálico e os sesquiterpenos  $\beta$ - carofilneo e  $\alpha$ - copaeno os principais componentes do óleo (BIAVATTI et al., 2006).

## 2.4 Óleo de Copaíba

A copaíba (*Copaifera* sp) é a árvore produtora do óleo de copaíba. É uma árvore de grande porte sendo o seu nome relacionado com a língua indígena tupi “cupa-yba” que significa a árvore que tem depósito, se referindo ao óleo guardado no interior do seu tronco (BRAGGIO, 2003). A copaíba é uma árvore nativa da região tropical da América Latina podendo ser encontrada no México e no norte da Argentina e também da África Ocidental (VEIGA JR. & PINTO, 2002). Conhecido pelo seu poder fitoterápico, sua extração é feita através de furos no tronco da árvore até atingir o cerne, processo semelhante à retirada de Látex na seringueira.

O óleo de copaíba tem grande importância econômica e cultural para povos indígenas da Região Amazônica, segundo a revista online ALIMENTAÇÃO VIVA E SUSTENTÁVEL, há registros do uso da copaíba na época de descobrimento do Brasil, onde missionários descreviam seu uso pelos indígenas e seu poder de cura.

A média de extração do óleo, por vez, de cada árvore, varia em torno de 0,3 a 3 litros, conforme a espécie e as condições em que está submetida, e algumas copaibeiras podem chegar a fornecer até 30 litros em uma única retirada. Não existem estudos definitivos sobre o período de tempo que é necessário para que uma árvore de copaíba possa recompor o óleo extraído. Não se retira óleo de todas as árvores, porém, não existem trabalhos precisos da média de árvores que realmente produzem o óleo, o que pode mudar segundo as características do solo, clima, espécie da *Copaifera* e época seca ou chuvosa (RIGAMONTE-AZEVEDO et al., 2004).

O óleo de copaíba é um líquido transparente de variada viscosidade com coloração variando, do amarelo ao marrom, caracteriza o óleo de copaíba (ABREU, 2014). Seus óleos apresentam grande quantidade de sesquiterpenos (mais de 40) e diterpenos (28 no total) (VEIGA JR.; PINTO; PATITUCCI, 1997; VEIGA JR. & PINTO, 2002). O principal composto do óleo de copaíba é o transcariofileno (ARAÚJO, 2010). Os sesquiterpenos possuem duas características fundamentais: têm baixa solubilidade em água e em soluções alcoólicas diluídas e têm propensão para oxidarem rapidamente. Segundo Maciel et al. (2002), suas atividades anti-inflamatórias são maiores quando comparada ao demais grupos presentes. Já um diterpeno que está presente em todas as variedades de óleo de copaíba comercializado é o ácido copálico (VEIGA JR et al., 1997). E o transcariofileno é um constituinte largamente utilizado para dar aroma aos cosméticos e sabonetes, além de muitas outras preparações técnicas, sendo comprovada sua ação antimicrobiana e anti-inflamatória (SILVA, 2010).

Em nutrição de aves quando comparado com promotores de crescimento o óleo de copaíba apresentou resultados satisfatórios. Souza (2010) ao comparar diferentes níveis do óleo com o promotor de crescimento virginiamicina para avaliar o desempenho produtivo de frangos de corte concluiu que a utilização da copaíba uma alternativa promissora como aditivo de crescimento. Na Universidade Federal de Goiás estão sendo realizados vários testes com a copaíba e outras plantas medicinais do cerrado na produção animal.

Ao avaliar o desempenho de cordeiros suplementados com o óleo de copaíba, Abreu (2014) conclui que a inclusão de até  $1,5\text{g/kgMS}^{-1}$  de óleo de copaíba na dieta para cordeiros melhora a digestibilidade in vivo da matéria seca e a digestibilidade in vitro da fibra em detergente neutro, não afetando o consumo e a digestão dos nutrientes, nas duas formas de fornecimento.

Mesmo sabendo de seu alto potencial como anti-inflamatório, antibacteriano, antifúngico e antisséptico, como citado anteriormente. Seus estudos para nutrição animal são recentes e escassos. O óleo de copaíba começou a ser estudado na nutrição animal com o início de pesquisas de óleos funcionais em substituição de aditivos nutricionais.

Estes estudos indicam que a o óleo de copaíba é uma alternativa viável na substituição dos ionóforos e que apesar das informações escassas sobre o assunto, os resultados obtidos mostram eficiência do bioproduto, na produção animal.

### **3. Materiais e Métodos**

O experimento foi realizado no setor de nutrição de ruminantes e no Laboratório de Nutrição Animal nas dependências do setor de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados Localizada em Dourados Mato Grosso do Sul, om latitude de  $22^{\circ}14'S$ , longitude de  $54^{\circ}49'W$  e altitude de 450 m, entre os meses de outubro a dezembro de 2013, totalizando 60 dias experimentais.

Foram utilizados quatro novilhos da raça Jersey, castrados e com o peso corporal variando médio de  $212 \pm 20$  kg providos de cânula ruminal. Os animais foram mantidos em baias individuais cobertas de  $8\text{ m}^2$  ( $2 \times 4\text{m}$ ), de piso batido, contendo comedouro e bebedouros individuais. Os animais receberam água à vontade e foram mantidos em sistema de consumo restrito de manutenção (NRC, 2001), recebendo o suficiente para sua manutenção. Sendo mantido um manejo higiênico/sanitário rigoroso das instalações. Todos os animais foram vacinados e receberam aplicação de anti-helmínticos antes do início do período experimental.



Os tratamentos avaliados foram: Tratamento 1: silagem de milho + suplemento proteico (S), Tratamento 2: Silagem de milho + suplemento proteico com monensina (SM), Tratamento 3: silagem de milho + suplemento proteico com óleo de copaíba (SO) e Tratamento 4: silagem de milho + suplemento proteico com monensina associada ao óleo de copaíba (SMO). O período experimental foi de 15 dias e os animais receberam diariamente 300 g de suplemento proteico com 38% de proteína bruta (Tabela1). Todos animais receberam silagem de milho como volumoso (Tabela 2).

**Tabela 1.** Composição percentual dos suplementos utilizados.

Composição	Percentual(%MS)
Milho Grão	40,00
Farelo de Soja	9,00
Ureia	11,00
Mistura Mineral	40,00

**Tabela 2.** Composição bromatológica da silagem de milho utilizada

Ingredientes (%MS)	MS	PB	EE	FDN	FDA	MM
Silagem de milho	28,73	5,96	2,61	44,64	24,53	5,41

MS = Matéria seca, PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo, FDN = fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente ácido, MM = matéria mineral.

A quantidade de monensina sódica inclusa na ração seguiu a recomendação de de 0,9 mg/kg PV (BRETSCHEIDER et al., 2008). A quantidade usada de óleo de copaíba foi de 1,0 g/Kg de PV, sendo adicionado na forma de spray (ABREU, 2014 ; LIMA, 2015). Como o óleo de copaíba apresenta uma alta densidade foi diluído em álcool isopropílico em uma proporção de 0,5g de óleo de copaíba para 7 mL de álcool (ABREU, 2014), para uma melhor pulverização. O óleo de copaíba (tabela 4) foi pulverizado na ração diariamente, no momento do fornecimento do tratamento.

**Tabela 3.** Caracterização química (sesquiterpenos, diterpenos e ácidos graxos) do óleo de copaíba utilizado no experimento.

<b>Sesquiterpenos</b>	<b>%</b>
β-cariophileno	9,78
β- bisaboleno	8,15
α- humuleno	8,08
β-Selineno	7,76
α-bisabolol	7,14
β-elemeneno	6,19
γ- cadineno	5,98
α-cadinol	5,67
<b>Diterpenos</b>	<b>%</b>
Ácido Hardwíckico	5,78
Colavenol	3,03
Ácido Copaífero	2,99
Ácido Copaiferólico	2,65
Ácido Calavênico	2,34
Ácido Patagônico	2,22
Ácido Copálico	2,03
<b>Ácidos Graxos</b>	<b>%</b>
14:0	1,67
16:0	3,67
18:0	2,98

Fonte (ABREU, 2014).

Para se determinar a excreção fecal dos animais foi utilizado um indicador externo (dióxido de titânio, TiO<sub>2</sub>), que foi introduzido diretamente no rúmen dos animais na quantidade diária de 10g divididos em dois cartuchos de 5g cada e introduzidos no horário das 7:00h e as 16:00h, durante o período experimental. O oxido de titânio foi fornecido a partir do segundo dia de cada período experimental.

Foi realizada a coleta de fezes diretamente do reto do animal, em cinco dias em horários distintos 0:00 (7:00h), 2:00 (9:00h), 4:00 (11:00h), 6:00 (13:00h) e 8:00 (15:00h). As fezes eram coletadas em bandejas de alumínio, devidamente pesados e tarados, após a coleta era realizada pesagem e secagem em estufa de circulação forçada durante 72 horas, logo após as amostras eram pesadas e moídas para realização das análises bromatológicas.

Ao final de cada período foi realizada amostra composta por animal, as análises do teor de titânio nas fezes foram realizadas por espectrofotometria de absorção atômica conforme Myers et. al (2004).

Para determinação de produção fecal foi utilizada a seguinte fórmula:

$$EF=OF/COF$$

Em que: EF= excreção fecal diária (g/dia); OF= dióxido de titânio fornecido (g/dia); COF= concentração de dióxido de titânio nas fezes (g/g MS).

As amostras de fezes e de alimentos foram analisadas para se estimar os teores de Matéria seca (MS) , Matéria mineral (MM), Proteína bruta (PB), Extrato etéreo (EE), Fibra em detergente neutro (FDN), conforme metodologias descritas pelo INC-CA, conforme DETmann et al (2012). os carboidratos totais (CHOT) foram calculados conforme descrito por Sniffen et al. (1992).

Após o período experimental, foi dado início as análises bromatológicas que foram realizados no Laboratório de Nutrição Animal (LANA), localizado no setor de zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados.

Os coeficientes de digestibilidade total de MS (DMS) foi obtido pela diferença entre a quantidade de MS ingerido e a MS fecal:  $DMS = 100*((MS\ ingerida - MS\ fecal)/MS\ ingerida)$ . E os coeficientes de digestibilidade total de nutrientes (DN), pelas suas relações com a MS, seus teores na ração, nas sobras e na produção fecal:  $DN = (((MS\ ingerida*\%Nutriente) - (MS\ excretada*\%Nutriente))*100)/(MS\ ingerida*\%Nutriente)$ .

A coleta de urina foi realizada no 15º dia experimental, na forma de *spot*, quatro horas após fornecimento do suplemento, em micção espontânea dos animais, sendo armazenados em alíquotas; a primeira, destinada a determinação da concentração de uréia e alantoína contendo 15 mL de urina e 135 mL de ácido sulfúrico 0,036 N. A segunda foi destinada a determinação da concentração de N total urinário contendo 100 mL de urina e 1 mL de ácido sulfúrico 36N. As amostras foram imediatamente congeladas a -20°C para análise posterior.

As análises de alantoína foram realizadas pelo método colorimétrico, conforme a técnica descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma de quantidades de alantoína e ácido úrico, excretas na urina, expressas em  $mmol\ dia^{-1}$ .

As purinas microbianas absorvidas (Pabs,  $mmol\ dia^{-1}$ ) foram calculadas a partir da excreção derivadas de purina (DP,  $mmol\ dia^{-1}$ ), utilizando a equação proposta por Verbic et al. (1990):

$$DP= 0,85 Pabs + 0,385 PV^{0,75}$$

Em que 0,85= recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas;  $0,385 PV^{0,75}$  = contribuição para excreção endógena de purinas.

O delineamento experimental utilizado foi quadrado latino 4x4, onde se foram utilizados quatro animais em quatro períodos de 15 dias. Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE, conforme modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + Q_l + G_m + Q_l(G_m) + e_{ijklm}$$

onde:  $Y_{ijk}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $A_i$  = efeito de animal ( $j = 1$  a 4),  $P_j$  = efeito do período ( $y = 1$  a 4),  $Q_l$  = efeito de copaíba ( $l = 1$  a 2),  $G_m$  = efeito de monensina ( $m = 1$  a 2),  $Q_l(G_m)$  = efeito de interação e  $e_{ijklm}$  = erro.

O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por:  $A_i$  e  $P_j$ . Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM= kr. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%.

#### 4.Resultados e Discussão

Durante todo o período experimental os animais foram mantidos em uma dieta de nutrientes fixos, ou seja, era fornecida a mesma quantidade de concentrado e volumoso diariamente (Tabela 4).

**Tabela4.** Consumo de matéria seca e de nutrientes em (g/dia) de novilhos mantidos em confinamento recebendo monensina e óleo de copaíba

<i>Nutriente</i>	<i>Silagem</i>	<i>Suplemento</i>	<i>Total</i>
MS	1359,75	261,99	1631,74
PB	320,25	114,00	434,25
FDN	1649,04	95,34	1744,38
EE	853,50	5,70	859,2
CHO Total	1085,49	72,93	1158,42
MO	1324,40	189,90	1514,3

Conforme podemos observar, o coeficiente de digestibilidade aparente na matéria seca foi significativa de forma negativa no tratamento com suplementação associada de monensina e óleo de copaíba, isso também ocorreu com o FDN (Tabela 5).

Já em relação ao controle a suplementação com monensina e óleo de copaíba, utilizados separadamente, aumentaram a digestibilidade da matéria seca, e também os teores de FDN.

Também podemos observar nos valores de P<sup>3</sup> que a monensina e a copaíba utilizadas de forma isoladas aumentaram a coeficientes da digestibilidade aparente da proteína bruta.

**Tabela 5.** Coeficientes de Digestibilidade aparente dos nutrientes de novilhos confinados suplementados com monensina, óleo de copaíba isoladamente ou em associação.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	Valores de P <sup>3</sup>		
	CONT	MON	COP	MC		MON	COP	INT
	<i>Coeficiente de digestibilidade (%)</i>							
Matéria seca	51,80 <sup>b</sup>	62,33 <sup>a</sup>	57,54 <sup>ab</sup>	46,29 <sup>a</sup>	2,59	0,131	0,732	0,030
Matéria orgânica	51,92	62,81	57,99	50,87	1,13	0,010	0,775	0,861
Proteína bruta	81,49	84,06	83,72	79,16	1,38	0,003	0,001	0,798
FDN	84,02 <sup>ab</sup>	86,23 <sup>a</sup>	86,41 <sup>a</sup>	80,44 <sup>b</sup>	2,02	0,940	0,422	0,006
CHOT	90,67	93,10	92,06	90,00	1,82	0,034	0,004	0,967
Extrato etéreo	90,57	91,10	90,15	87,74	0,71	0,445	0,526	0,542

<sup>1</sup>CONT (dieta controle), MON (monensina); COP (copaíba), INT (interação entre copaíba e monensina).<sup>2</sup>EPM (Erro padrão da média). <sup>3</sup>Efeito de MON (monensina), COP (copaíba), INT (interação). Médias seguidas de letras diferentes foram desdobradas pela interação através do pdiff pelo PROC MIXED do SAS, (2009).

Já com relação ao teores médios de derivados de purina e síntese microbiana, a copaíba utilizada isoladamente aumentou o conteúdo de purinas totais e purinas absorvidas, o que poderia aumentar a síntese microbiana, mas não foi demonstrado nos valores do nitrogênio possivelmente por se tratar de consumo limitado de nutrientes (Tabela 6).

Na associação de monensina e copaíba foi observado que houve queda nos valores de nitrogênio e proteína bruta, isso demonstra que essa associação agiu diretamente de forma negativa na síntese microbiana, possivelmente por competição, o que também foi demonstrado nos valores de pH e N-NH<sub>3</sub> (LIMA, 2015).

**Tabela 6.** Teores médios de derivados de purinas (mmol/L) e síntese de proteína microbiana (g/dia) em novilhos suplementados com monensina, óleo de copaíba ou em associação.

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	Valores de P <sup>3</sup>		
	CONT	MON	COP	MC		MON	COP	INT
	<i>mmol/L</i>							
Alantoína	1,04	1,05	0,95	1,19	0,04	0,199	0,788	0,212
Ácido Úrico	1,33	1,33	2,52	0,96	0,25	0,863	0,446	0,645
Purinas totais	2,37	2,38	3,47	2,15	0,23	0,156	0,336	0,154
	<i>mmol/dia</i>							
Alantoína	21,13	20,96	18,82	24,05	1,04	0,189	0,834	0,164
Ácido Úrico	27,69	27,69	52,16	19,03	5,78	0,144	0,009	0,171
Purinas totais	48,83	47,49	70,98	43,09	5,31	0,182	0,003	0,222
Purinas abs	46,85	45,25	73,21	40,02	6,28	0,178	0,008	0,217
	<i>g/dia</i>							
Nitrogênio	34,06 <sup>ab</sup>	32,90 <sup>ab</sup>	53,23 <sup>a</sup>	29,09 <sup>b</sup>	4,57	0,178	0,398	0,007
Proteína bruta	212,91 <sup>ab</sup>	205,65 <sup>ab</sup>	332,71 <sup>a</sup>	181,85 <sup>b</sup>	28,56	0,178	0,398	0,007

<sup>1</sup>CONT (dieta controle), MON (monensina); COP (copaiba), INT (interação entre copaiba e monensina).<sup>2</sup>EPM (Erro padrão da média). <sup>3</sup>Efeito de MON (monensina), COP (copaiba), INT (interação). Médias seguidas de letras diferentes foram desdobradas pela interação através do pdiff pelo PROC MIXED do SAS, (2009).

## 5. Conclusão

A monensina e o óleo de copaíba em associação reduz a digestibilidade e nitrogênio e proteína bruta da síntese microbiana, já utilizadas isoladamente obtiveram comportamentos parecidos na digestibilidade e o óleo de copaíba aumentou as purinas totais e as purinas absorvidas .

## 6.Literatura Citada

ABREU, F. S. S. Degradabilidade e digestibilidade de diferentes dietas para cordeiros confinados utilizando níveis crescentes de óleo de copaíba (Copaifera SP.), **Dissertação-(mestrado)**, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 2014.

ARAUJO, R. C., Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal in vitro. **Tese-(Doutorado)**, Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba-São Paulo, 2010. 61p.

ARIDOGAN, B.C; BAYDAR,H.; KAYA, S.; DEMIRCI, M.; OZBASAR, D.; MUMCU, E. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. **Archives Pharmacal Research**, Seoul, v. 25, n.6, p. 860-864, Dec. 2002.

BENCHAAR, C; MCALLISTER, T.A.; CHOUINARD, P.Y. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde. Quebracho condensed tannin, or yucca schidigera saponin extracts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.91, p. 4765-4777, 2008.

BIAVATTI, M.W.; DOSSIN, D.; DESCHAMPS, F.C.; LIMA, M.P. Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v.16, n.2, p.230-235, 2006

BRAGGIO, M. M. Plasta medicinais: noções básicas e aplicações na agropecuária. **Instituto Biológico**. V.65, n1/2, p 45-46, 2003.

BRETSCHNEIDER, G.; ELIZALDE, J.C; PEREZ, F.A. The effect of feeding antibiotic growth promoters on the performance of beef cattle consuming forage-based diets: a review. **Livestock Science**, v. 114, n. 2/3, Abril 2008, p. 135-149.

CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n.6, p. 2580- 2595, 2007.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details**. Bucksburnd: Rowett Research Institute, 1992. 21p. (Occasional publication)

CHURCH, D.C. **El ruminante: fisiología, digestiva y nutrición**. Metabolismo de la proteína en lo ruminantes. Zaragoza: ACRIBIA, 1993. p. 255-258.

COTTON, W.R.; PIELKE, R.A. Human impacts on weather and climate. **Cambridge: Cambridge University Press**, 1995. 288p.

COX, S.D.; MANN, C.M.; MARKHAM, J.L. interactions between components of the essential oil of melaleuca alternifolia. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 91, p. 492- 497, 2001.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos- INCT- Ciência Animal**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.

DE WIT, J.C. ET AL;. Effects of garlic and onion oil on toxin production by *C.botulinum* in meat slurry. **Journal food Protection**, Ames v. 42, p. 222-224, 1979.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 83, p. 308- 316, 2000.

FERNANDO, S. Et al. Rumen microbial population dynamics during adaption to highgrain diet **Appled and Environmental microbiology**. v. 76, p. 7482-7490, 2010.

GALYEN, M.; RIVERA, J. Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 83, p. 13-20, 2003.

GANDRA, J. R. Avaliação do uso de monensina sódica em rações de vacas leiteiras: desempenho produtivo e resíduos no leite. **Dissertação (mestrado)**, USP-Pirassununga, 2009.

GARCIA & COAN UTILIZAÇÃO DE ADITIVOS IONÓFOROS NA PRODUÇÃO DE BOVINOS EM CONFINAMENTO. Boletim informativo. **Coan Consultoria avançada em pecuária**.

GARG, S.C; GARG, D.C. In vitro antibacterial activity of some essencial oils. **Parfum Kosmet**, Berlin, v.61, p. 212-220,1980.

GOAD, D.; GOAD, C.; NAGARAJA, T. Ruminant microbial and fermetative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 234-241, 1998.

GRIFFIN, S.G.; WYLLIE, S.G.; MARKHAM, J.L.; LEACH, D.N. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. **Flavour and Frangrance Journal**, Chichester, v.4, p. 322-332, 1999.

GOMES. C.T. , Aditivos ( monensina sódica, levedura e probióticos) para bovinos da raça Nelore terminados com concentrado rico em co-produtos. **Dissertação-(mestrado)** Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba-SP, 2009.

HUHTANEN, C. N.Inihibition of Clostridium botulinum by Spice extracts and aliphatic acohols. **Journal Food Protect**, Ames, N.3, V.43, p195-196, Mar.1980.

JOBLIN, K.N. Rumen acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions. **Australian Journal of Agricultural Research**, 50:1307-1313, 1999.

JOHNSON K.A.; JOHNSON D.E. Methane emissions from Cattle. **Journal of Animal Science**. Vol. 73, n.8, p.2483-92. 1995.

LIMA, F.E.O. Óleo de copaiba (capaífera sp.) para bovinos suplementados a pasto. **Dissertação (mestrado)**. Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados- MS, 2015. 55p.

LODDI, M.M.; GONZALES, E.; TAKITA, T.S. et. al. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1124-1131, 2000.

LUCCI, C.S. **Nutrição e manejo de bovinos leiteiros**. São Paulo: Manole, 1997. P. 169.

MACIEL, M.A. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quimica Nova**, v.25, n.3, p.429-38, 2002.

MARCUCI, M. T., et al. EFEITO DO ADITIVO MONENSINA SÓDICA NO METABOLISMO RUMINAL DE BOVINOS DE CORTE. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, Ano XII-Número 22, 2014.



MARINO. C. T. , Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar, fermentação ruminal e digestibilidade in vivo de bovinos suplementados com três fontes energéticas. **Tese. Programa de Pós-graduação.** Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Campus de Botucatu, Botucatu-SP, 2008.

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

McALLISTER, T.A. et al. Digestion of barley, maize, and wheat by selected species of ruminal bacteria. **Applied and environmental microbiology**, v. 56, p. 3146-3153,1990.

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

MYERS; W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Thecinal Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v. 8, n.1, p. 179-183, 2004.

NAGARAJA, T.G et al. Effect of lasalocid, monensin and thiopeptin of lactate production from in vitro rumen fermentation of starch. **Canadian Journal of Animal Science**, v.66, p. 129- 139, 1986.

NAGARAJA, T.G., AVEY, T.B., BARTLEY, E.E. 1982. Effect of lasalocid, monensin or thiopectin on lactic acidosis in cattle. **Journal of Animal Science**, 54(3):649-658.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. et al. Manipulation of ruminal fermentation In: HOBSON, N.P. (Ed). **Rumen microbial ecosystem**. London: Blackie, 1997. p.523-631

NEWBOLD, C. J; CHAMBERLAIN, D.G.; WILLIAMS, A.G. The effectgs of defaunation on the metabolism of lactic acid in the rumen. **Journal of the science of food and Agriculture**, v. 37, p. 1083-1090, 1986.

NICODEMO, M.L.F., Uso de Aditivos na Dieta de Bovinos de Corte. Documento **EMBRAPA** gado de corte, ISSN 15 17-3747, Campo Grande- MS, 2001.

OWENS, F. et al. acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 275- 286, 1998.

PARRY. J.W. Spices: morfology, histology, chemetry. New York: Chemical, 1962. V2, 183p.

POTTER, E. L.; VANDUYN, R. L. ; COOLEY, C. O. Monensin toxicity in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 58, n. 6, p. 1499-1511, 1984.

REIS. R. A. , et al. ADITIVOS ALTERNATIVOS PARA A ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES. II **Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal (II CLANA) Palestra Técnica Realização: CBNA - AMENA**– São Paulo, SP. Ingredientes destinados à Nutrição Animal. São Paulo- SP, 2006.

RIGAMONTE-AZEVEDO, O.C.; WADT P.G.S.; WADT L.H.O. Copafba: ecologia e produção de óleo-resina. **EMBRAPA, MAPA**, Rio Branco, AC, 2004. 28p.

RIZZO, P.V. Misturas de extratos vegetais como alternativas ao uso de melhoradores de do desempenho nas dietas de frango de corte. **Dissertação (mestrado)**- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo. 69 p. 2008.

RIZZO. P. V., et al. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.4, p.801-807, 2010.

RUSSEL, J. B. et al. Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.872-877, 1988.

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

RUSSELL, J.B. Bactéria. "Mechanisms of ionophore action in ruminal bacteria". Symposium Sponsored by: Elanco Animal Health. **Scientific Update** " On rumensin / Tylan/ Micotil for the professional feedlot consultant", Amarillo– TX, august, p.E1-E19, 1996.

SALLES & LUCCI. Monensina para Bezerros Ruminantes em Crescimento Acelerado. 2. Digestibilidade e Parâmetros Ruminais. **Rev. bras. zootec.**,2000.

Santos, J.E.P. Distúrbios Metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V.; OLIVEIRA S.G. (Eds). **Nutrição de Rumimantes**. Jaboticabal, SP: funep, 2011. p. 439- 520.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J; FOX D. G., RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v.70. p.3562-3577. 1992.

SCHUEERMANN, G.N.; CUNHA JUNIOR, A. A perspectiva para a utilização de produtos de origem vegetal como aditivos alternativos na alimentação de aves. Disponível em: [http://www.engormix.com/perspectivas\\_a\\_utilização\\_produtos\\_p\\_artigos\\_16\\_AVG.htm](http://www.engormix.com/perspectivas_a_utilização_produtos_p_artigos_16_AVG.htm)> acesso em 19.02.2009.

**Science**, v.73, p.2483-2492, 1995.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3ed. Viçosa, MG: editora UFV, 235p, 2002.

SIMÕES, C.M.O.; SPITIZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/ Florianópolis: **UFRGS/UFSC**, 2000. Cap. 18, 2000.

Souza. V. P., Uso de óleo essencial de copaíba sobre o desempenho produtivo de frangos de corte. **Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal**, Programa de Pós- Graduação em Ciência Animal, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Belém-PA 2010.

ULTEE, A.; BENNIK, M.H.J.; MOEZELAAR, R. the phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food- borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and environmental microbiology**, Washington, v. 65, p. 4606- 4610, 1999.

VEIGA JR., V.F; PINTO, A.C.; PATITUCCI, M.L. Controle de autenticidade de óleo de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, São Paulo, v.20, n.6, p. 612-615, 1997.

VEIGA JR.,V.F.; PINTO , A.C . O gênero Copaifera L. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p273-286, 2002.

VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A.; ØRSKOV, E.R. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v. 114, n.3, p. 243-248, 1990.

ZANINE. A. D., et al. Importância, uso, mecanismo de ação e retorno econômico dos ionóforos na nutrição de ruminantes. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária** - issn 1679-7353 publicação científica da faculdade de medicina veterinária e zootecnia de garça/famed ano iii, número, 06, janeiro de 2006.

ZOTTI, C. A. & PAULINO, V. T. Metano na produção animal: Emissão e minimização de seu impacto. **Instituto de Zootecnia, APTA/SAA** , 2009.