

UFRRJ
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

TESE

Adição de Fitogênicos em Rações de Frangos de Corte

Débora Costa Barroso

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

ADIÇÃO DE FITOGÊNICOS EM RAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE

DÉBORA COSTA BARROSO

Sob a orientação da Professora
Cristina Amorim Ribeiro de Lima

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal.

Seropédica, RJ
Março de 2016

636.5130855

B277a Barroso, Débora Costa, 1985-

T Adição de fitogênicos em rações de frangos de corte / Débora Costa Barroso - 2016.

97 f.: il.

Orientador: Cristina Amorim
Ribeiro de Lima.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Zootecnia.

Bibliografia: f. 78-89.

1. Frango de corte - Alimentação e rações - Teses. 2. Agentes antiinfeciosos - Teses. 3. Ave - Criação - Teses. 4. Alimentação dos animais - Teses. I. Lima, Cristina Amorim Ribeiro de, 1963-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DÉBORA COSTA BARROSO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal.

TESE APROVADA EM ----/----/-----

Cristina Amorim Ribeiro de Lima. Dr^a. UFRRJ
(Orientador)

Emerson Guedes Pontes. Dr. UFRRJ

Glória Maria Direito. Dr^a. UFRRJ

Flávio Medeiros Vieites. Dr. UFJF

Verônica da Silva Cardoso. Dr^a. UFRJ

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora **Cristina Amorim Ribeiro de Lima** pela orientação, ensinamento, paciência e cuidado com todos os seus orientados, visando sempre nosso aprimoramento profissional.

Ao Professor Doutor **Emerson Guedes Pontes** pela ajuda nas análises e ensinamentos.

À Professora Doutora **Glória Maria Direito** pela ajuda e atenção.

Ao Professor Doutor **Augusto Vidal da Costa Gomes** pelo apoio.

À **Coordenadoria de Produção Integrada ao Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRRJ** e ao coordenador **Everton Mattos** pelo apoio no fornecimento de insumos para o experimento.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão da bolsa de estudos.

À empresa **Evonik** pela doação dos aditivos fitogênicos utilizados.

Aos colegas da pós-graduação **Débora, Felipe, Ronner, Noedson, Wellington e Marcos Fábio** pelo apoio durante os experimentos.

Aos estagiários **Cleriston, Aline, Letícia, Juan, Gisele, Ingrid, Jéssica, Igor, Marcos, Tarcísio, Bruna** pelo auxílio na condução dos experimentos.

Aos funcionários **Pedro e Valdecir** pela ajuda na realização dos abates.

Aos funcionários **Fernando e Luis** pela ajuda na fabricação das dietas experimentais.

Aos funcionários **Marcos e Evandro** pelo auxílio nas análises bromatológicas.

Aos meus pais, **Marlene Costa Barroso e Gutemberg Carlos Barroso** pelo amor incondicional, de fundamental importância para a concretização de mais essa etapa.

E finalmente ao meu amigo, companheiro e amado **Caio César Corrêa** por seu apoio e incentivo, que tornou os momentos mais difíceis possíveis de ser encarados.

A todos os familiares e amigos que torceram por mim e contribuíram para o encerramento de mais essa etapa.

RESUMO

BARROSO, Débora Costa. **Adição de Fitogênicos em Rações de Frangos de Corte**. 2016. 88p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O presente trabalho foi realizado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no Instituto de Zootecnia. Foram realizados quatro experimentos, utilizando os aditivos zootécnicos avilamicina, capsaicina, cinamaldeído, carvacrol e piperina na ração de frangos de corte. O objetivo foi avaliar os índices produtivos e a possibilidade de retirada dos antimicrobianos da ração, avaliando o impacto na metabolizabilidade dos nutrientes da ração balanceada, a influência sobre parâmetros hematológicos, e também quantificar a atividade das enzimas digestivas e antioxidantes. No primeiro experimento foram utilizados cinco tratamentos: ração referência + antimicrobiano (avilamicina); ração referência; ração referência + 60 mg/Kg de piperina; ração referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol e ração referência + 15 mg/Kg de capsaicina, com seis repetições de 10 aves por unidade experimental, totalizando 30 parcelas e 300 aves, em gaiolas metabólicas. Foi realizado um ensaio de metabolizabilidade com duração de 10 dias. Com 36 dias de idade, os frangos foram abatidos e coletado o fígado de quatro aves por tratamento, para avaliação da atividade da enzima catalase. No segundo experimento, foi acrescentado farelo de trigo à ração referência, para análise da atividade enzimática pancreática (amilase e protease). Foram utilizados cinco tratamentos e cinco repetições de 10 aves por unidade experimental, totalizando 25 parcelas e 250 frangos. Os tratamentos foram: ração referência + antimicrobiano; ração referência; ração referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol; ração referência + 15 mg/Kg de capsaicina; ração referência + 30 mg/Kg de capsaicina. No terceiro experimento foram utilizados cinco tratamentos e seis repetições de 10 aves por unidade experimental, totalizando 30 parcelas e 300 frangos. Foram utilizados os mesmos tratamentos do segundo experimento e realizado em gaiolas metabólicas, com análise de desempenho, características de carcaça e ensaio de metabolizabilidade. No quarto experimento, foram analisados o desempenho, características de carcaça e parâmetros sanguíneos. Os frangos foram distribuídos em cinco tratamentos, semelhantes aos do segundo e terceiro experimentos, sendo quatro repetições com 30 frangos, totalizando 600 aves, em galpão experimental. Os dados foram analisados por programa estatístico e quando verificado efeito significativo foi utilizado o teste SNK e o teste Dunnett para comparação das médias com significância de 5% ($p < 0,05$). O uso de carvacrol, cinamaldeído, capsaicina e piperina mantiveram o resultado para altura de vilosidade do íleo semelhante quando utilizada avilamicina. A capsaicina resultou em atividade enzimática proteásica no pâncreas equivalente ao do grupo que recebeu avilamicina, assim como energia metabolizável aparente semelhante a dos frangos que receberam ração com o antimicrobiano. Ao utilizar 30 mg/kg de capsaicina, foram observados diminuição do ganho de peso e aumento da conversão alimentar, menor peso vivo pós-jejum e menor peso de carcaça quente. O uso dos fitogênicos testados influenciou benéficamente algumas características estudadas, justificando seu uso na dieta de frangos de corte.

Palavras-chave: Antimicrobianos, Extratos vegetais, Frangos de corte.

ABSTRACT

BARROSO, Débora Costa. **Phytogenic Added in Broiler Diets**. 2016. 88p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

This study was conducted at the Federal Rural University of Rio de Janeiro, at the Animal Science Institute. Four experiments were performed using as zootechnical additives avilamycin, capsaicin, cinnamaldehyde, carvacrol and piperine in the feed of broilers. The objective was to evaluate the production rates and the possibility of withdrawal of the feed antimicrobials, evaluating the impact on the metabolization of nutrients balanced diet, influence on hematological parameters, but also to quantify the activity of the digestive enzymes and antioxidants. In the first experiment were used five treatments: basal diet + antibiotic (avilamycin); basal diet; basal diet + 60 mg / kg piperine; basal diet + 150 mg / kg of cinnamaldehyde, capsaicin and carvacrol and basal diet + 15 mg / kg capsaicin, with six replicates of 10 birds each, totaling 30 plots and 300 birds in metabolic cages. One metabolizable trial lasting 10 days was done. At 36 days of age the chickens were killed and liver collected from four birds per treatment, for evaluation of the catalase enzyme activity. The second experiment was added wheat bran to feed reference for analysis of pancreatic enzyme activity (amylase and protease). Five treatments and five replications of 10 birds each, totaling 25 plots and 250 chickens were used. The treatments were: basal diet + antimicrobial; reference diet; basal diet + 150 mg / kg of cinnamaldehyde, capsaicin and carvacrol; basal diet + 15 mg / kg capsaicin; basal diet + 30 mg / kg capsaicin. In the third experiment were used five treatments and six replicates of 10 birds each, totaling 30 plots and 300 chickens. The same treatments of the second experiment performed and were used in metabolic cages with performance analysis, carcass characteristics and metabolization assay. In the fourth experiment, we analyzed the performance, carcass characteristics and blood parameters. The chickens were distributed in five treatments, similar to the second and third experiments, four repetitions with 30 chickens, totaling 600 birds in experimental shed. Data were analyzed by statistical program and when found significant effect was used SNK test and Dunnett's test for comparison of means with significance of 5% ($p < 0.05$). The use of carvacrol, cinnamaldehyde, piperine and capsaicin kept the results to villus height similar ileum when used avilamycin. Capsaicin protease resulted in equivalent pancreatic enzyme activity in the group that received avilamycin, as apparent metabolizable energy similar to that of chickens receiving the antimicrobial. By using 30 mg / kg capsaicin were observed decreased weight gain and increased feed conversion, lower post-fasting body weight and lower weight of hot carcass. The use of the tested phytogenic beneficially influenced some traits, justifying its use in the diet of broiler chickens.

Keywords: Antimicrobial, Broilers, Plant extracts.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Antimicrobianos Melhoradores de Desempenho na Avicultura	2
2.1.1 Resistência microbiana	3
2.2 Ação dos Fitogênicos no Organismo	5
2.2.1 Efeito antimicrobiano	6
2.2.2 Efeito antioxidante	7
2.2.3 Efeito sobre a digestibilidade	7
2.3 Orégano, Canela, Pimenta-do-reino e Pimenta vermelha	8
2.4 Atividade Pancreática Enzimática em Aves	10
2.5 Hematologia em Aves	11
2.6 Microbiota Intestinal	12
CAPÍTULO I - CARVACROL, CINAMALDEÍDO CAPSAICINA E PIPERINA: AÇÃO NA METABOLIZABILIDADE DE NUTRIENTES, MORFOMETRIA INTESTINAL E ATIVIDADE ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1 Local e Período Experimental	19
2.2 Animais, Instalações e Manejo	19
2.3 Dieta Basal e Rações Experimentais	20
2.4 Delineamento Experimental	22
2.5 Parâmetros Avaliados	22
2.5.1 Metabolizabilidade de nutrientes	22
2.5.2 Avaliação da integridade intestinal	23
2.5.3 Avaliação da enzima catalase	24
2.6 Análises Estatísticas	24
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
3.1 Avaliação da Metabolizabilidade	25
3.2 Avaliação da Mucosa Intestinal	26
3.3 Avaliação da Atividade da Catalase	27
4 CONCLUSÕES	29
CAPÍTULO II – CARVACROL, CINAMALDEÍDO E CAPSAICINA:	30

METABOLIZABILIDADE DE NUTRIENTES E ATIVIDADE ENZIMÁTICA PANCREÁTICA	
RESUMO	31
ABSTRACT	32
1 INTRODUÇÃO	33
2 MATERIAL E MÉTODOS	34
2.1 Local e Período Experimental	34
2.2 Animais, Instalações e Manejo	34
2.3 Dieta Basal	35
2.4 Delineamento Experimental e Tratamentos	37
2.5 Parâmetros Avaliados	37
2.6 Análises Estatísticas	39
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1 Metabolizabilidade de Nutrientes	41
3.2 Determinação da Atividade Proteásica e Amilásica do Pâncreas	41
4 CONCLUSÕES	44
 CAPÍTULO III – CARVACROL, CINAMALDEÍDO E CAPSAICINA: ÍNDICES PRODUTIVOS E METABOLIZABILIDADE DE NUTRIENTES	45
RESUMO	46
ABSTRACT	47
1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1 Local e Período Experimental	49
2.2 Animais, Instalações e Manejo	49
2.3 Dieta Basal	50
2.4 Delineamento Experimental e Tratamentos	52
2.5 Parâmetros Avaliados	52
2.6 Análises Estatísticas	54
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.1 Avaliação da Metabolizabilidade	55
3.2 Avaliação de Desempenho	56
3.3 Características de Carcaça	58
4 CONCLUSÕES	60
 CAPÍTULO IV – ÍNDICES PRODUTIVOS E PARÂMETROS SANGUÍNEOS	61
RESUMO	62
ABSTRACT	63
1 INTRODUÇÃO	64
2 MATERIAL E MÉTODOS	65

2.1 Local e Período Experimental	65
2.2 Animais, Instalações e Manejo	65
2.3 Dieta Basal	66
2.4 Delineamento Experimental e Tratamentos	67
2.5 Parâmetros Avaliados	67
2.6 Análises Estatísticas	68
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
3.1 Parâmetros Sanguíneos	69
3.2 Avaliação de Desempenho	71
3.3 Características de Carcaça	73
4 CONCLUSÕES	76
 CONCLUSÕES GERAIS	 77
 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 78

1 INTRODUÇÃO GERAL

A crescente restrição e proibição do uso dos antimicrobianos como melhoradores de desempenho na alimentação animal tem resultado no desenvolvimento de uma nova geração de produtos para auxiliar no equilíbrio benéfico da microbiota do trato gastrointestinal. A categoria de aditivos zootécnicos é composta por três grupos funcionais: digestivos, equilibradores da microbiota intestinal e melhoradores de desempenho. Os fitogênicos são aditivos zootécnicos equilibradores da microbiota intestinal e se apresentam como possível alternativa ao uso dos antimicrobianos melhoradores de desempenho na dieta de frangos de corte.

Os aditivos fitogênicos são substâncias derivadas de plantas medicinais e compreendem uma ampla variedade de especiarias, ervas e produtos derivados tais como os óleos essenciais, extratos e óleo-resina e seus componentes purificados, que têm efeito positivo sobre a produção e a saúde dos animais.

Os aditivos zootécnicos podem afetar diretamente o ecossistema microbiológico do trato gastrointestinal (TGI) dos animais e, indiretamente, os processos digestivos e o desempenho zootécnico. Estudos com fitogênicos na dieta para frangos de corte têm apresentado resultados como aumento da microbiota benéfica intestinal, melhora na metabolizabilidade e absorção de nutrientes pelo estímulo da atividade enzimática e alterações histológicas do trato gastrointestinal.

Dentre os fitogênicos citados na literatura com ação sobre o metabolismo das aves, podem ser citados o carvacrol, princípio ativo presente no orégano, o cinamaldeído, presente na canela, a capsaicina na pimenta vermelha e a piperina, componente de diversas espécies de pimenta. Esses fitogênicos têm sido analisados por seus possíveis efeitos como agente antimicrobiano, antioxidante, estimulante da ação enzimática digestiva, estimulantes da digestibilidade e absorção de nutrientes.

Portanto, o presente estudo visou avaliar a adição de carvacrol, cinamaldeído, capsaicina e piperina na ração de frangos de corte, investigando os efeitos nos índices produtivos e a possibilidade de retirada dos antimicrobianos melhoradores de desempenho da ração. Para tanto foram determinadas as ações dos fitogênicos nos parâmetros de produção em frangos de corte, avaliando o impacto na metabolizabilidade dos nutrientes da ração balanceada, na integridade da mucosa intestinal, nos parâmetros hematológicos, na atividade das enzimas digestivas hepáticas e pancreáticas e a ação moduladora sobre o sistema imunológico de frangos de corte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Antimicrobianos Melhoradores de Desempenho na Avicultura

A descoberta do primeiro antimicrobiano foi feita por Alexander Fleming, em 1928. Ele estudava a bactéria *Staphylococcus aureus*, e esqueceu por alguns dias placas com culturas dessas bactérias expostas ao ambiente. Quando retornou, encontrou a cultura contaminada por esporos do fungo *Penicilium notatum*, que cresceu na placa e formou um halo de inibição de crescimento das bactérias (FERREIRA *et al.*, 2008), deduzindo que o fungo sintetizava uma substância inibidora, descobrindo assim a penicilina.

Em 1948, durante os estudos de identificação e isolamento da vitamina B12 em culturas fúngicas, demonstrou-se que a massa micelar obtida nessas culturas continha antimicrobianos, os quais atuavam como potente melhorador de desempenho. A atuação destes antimicrobianos como melhoradores de desempenho foi se tornando cada vez mais clara e em 1951 o Food and Drug Administration (FDA) aprovou seu uso na alimentação animal sem prescrição veterinária (GONZALES *et al.*, 2012). O primeiro trabalho científico foi em 1949, demonstrando o efeito benéfico do uso de antimicrobianos e quimioterápicos em níveis subterapêuticos utilizando a clortetraciclina.

O uso dos antimicrobianos na alimentação dos animais, segundo Gonzales (2004), é indicado para se alcançar quatro grandes objetivos: obter maior produtividade e maior crescimento; aumentar a eficiência de utilização da dieta; melhorar a saúde e a resistência a doenças; diminuir a mortalidade.

Esses antimicrobianos são usados em doses subterapêuticas, e, ainda de acordo com Gonzales (2004), o que difere os antimicrobianos melhoradores de desempenho (AMD) dos terapêuticos é que estes não são absorvidos, equilibram as bactérias do trato gastrointestinal, podem melhorar o ganho de peso e a conversão alimentar, e tem baixa deposição de resíduos nos tecidos e órgãos.

Os antibióticos, assim como os quimioterápicos, podem ser AMD, sendo os antibióticos propriamente ditos, substâncias produzidas por fungos, leveduras ou bactérias que atuam contra bactérias (MENDES *et al.*, 2013).

Os agentes antimicrobianos podem atuar por alguns mecanismos de ação, como inibição da síntese de paredes celulares, inibição da síntese do ácido nucleico ou de sua função, inibição competitiva, e inibição da síntese de proteínas (HUYGHEBAERT, 2005).

A inibição da síntese da parede celular é feita pelos antimicrobianos mais seletivos. As penicilinas, ampicilina e cefalosporinas contêm um anel beta-lactâmico em sua estrutura, que se ligam a proteínas denominadas Penicillin Binding Protein (PBPs), e inibem a enzima responsável pela ligação entre as cadeias de tetrapeptídeos do peptidoglicano. Dessa maneira, ocorre o impedimento da formação das ligações entre os tetrapeptídeos de cadeias adjacentes de peptidoglicano, ocasionando uma perda na rigidez da parede celular. Esses fármacos também podem atuar promovendo a ativação de enzimas autolíticas, resultando na degradação da parede (MENDES *et al.*, 2013). Ainda segundo Mendes *et al.* (2013), os antimicrobianos agem tanto na membrana citoplasmática como na parede celular, se ligando entre os fosfolípidos e alterando sua permeabilidade. Alguns antibióticos podem agir como

ionóforos possibilitando que as moléculas hidrofóbicas se liguem a membrana citoplasmática, permitindo a difusão passiva de compostos ionizados para dentro ou fora da célula.

Uma classe de antimicrobianos amplamente utilizada é o das quilononas, que são agentes quimioterápicos sintéticos que inibem o DNA topoisomerase do tipo II (girase) ou topoisomerase do tipo IV, que são necessárias para a replicação, recombinação e o reparo do DNA bacteriano. O principal alvo das quilononas em bactérias Gram-negativas é a subunidade A do DNA girase, e em bactérias Gram-positivas, a topoisomerase do tipo IV (MURRAY *et al.*, 2014).

Quanto à inibição da síntese proteica, diversos antimicrobianos atuam através deste mecanismo. Estes se ligam ao ribossomo bacteriano, especificamente ao complexo da ribonucleoproteína, interferindo a síntese proteica e inibindo o crescimento bacteriano. Os antimicrobianos se ligam a uma subunidade do ribossomo bacteriano e inibe o processo de transpeptidação e translocação, liberando prematuramente o peptídeo incompleto, que perde sua função celular e impede a síntese de proteínas vitais à célula bacteriana, ocorrendo a morte celular (MENEZES *et al.*, 2007).

Os antimicrobianos podem atuar, de acordo com Bellaver (2002) por efeito metabólico, em que o agente antibacteriano melhoraria o desempenho dos animais por efeito direto sobre o metabolismo do animal, onde a ação ocorre sobre as células do epitélio intestinal alterando a absorção de nutrientes; efeito nutricional, onde mudanças na população microbiana intestinal resultariam em maior disponibilidade de nutrientes para o hospedeiro; efeito sobre o controle de doenças, onde os antimicrobianos inibiriam o crescimento de bactérias intestinais que se aderem e produzem toxinas no epitélio intestinal, que podem levar à redução no consumo de ração e demandam nutrientes que poderiam ser utilizados na síntese de proteína.

2.1.1 Resistência microbiana

A resistência bacteriana, segundo Haese e Silva (2004), é um fenômeno biológico que possibilita aos microrganismos a capacidade de multiplicação ou persistência na presença de níveis terapêuticos do antimicrobiano. Atualmente essas substâncias ainda têm sido utilizadas como melhoradores de desempenho na alimentação animal pelos benefícios que trazem, mas se tem despertado críticas pelo seu uso quanto à possibilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana e que essa possa ser transferida aos microrganismos patogênicos, tanto nos animais quanto nos humanos que consomem produtos oriundos desses animais (BRUMANO e GATTÁS, 2009).

O primeiro relato sobre uma possível resistência bacteriana a antimicrobianos foi feito por Alexander Fleming (próprio descobridor dos antibióticos, em 1928) que durante um discurso, em 1945, alertou sobre a possibilidade de doses sub-terapêuticas gerarem microrganismos resistentes (MCCARTNEY, 2008). De acordo com Edens (2003), o uso de antimicrobianos pertencentes aos mesmos grupos de drogas terapêuticas possibilitou o surgimento de microrganismos resistentes às mesmas, gerando preocupação do ponto de vista da saúde animal e humana, entretanto, WHO (1997) descreve que parte da resistência microbiana a antibióticos ocorre devido ao uso inadequado destes.

A resistência microbiana ocorre quando as bactérias encontram maneiras de sobreviver aos antimicrobianos presentes no seu meio, modo este que, de acordo com Edens (2003), pode ser através de menor absorção do antimicrobiano pela membrana da bactéria, minimizando ou impedindo totalmente o efeito; metabolizando o antimicrobiano em produtos não nocivos; transformando-o em um produto com o qual a bactéria possa coexistir.

Os mecanismos de resistência antimicrobiana podem ser classificados, de acordo com Giguère *et al.* (2010), em quatro categorias: menor permeabilidade da membrana, onde o antimicrobiano pode ser impedido de atingir seu alvo em razão de sua baixa capacidade de penetração na célula; efluxo ativo, em que alguns microrganismos possuem bombas capazes de destruir ou expulsar antimicrobianos do meio intracelular para o meio extracelular, impossibilitando o antimicrobiano de atingir a concentração necessária para exercer seu efeito; modificação do antimicrobiano, onde o produto pode ser inativado por meio de modificação ou degradação, antes ou depois da penetração da célula; modificação enzimática do antimicrobiano, onde este pode ser modificado através da sua degradação por enzimas produzidas pela bactéria, de modo que deixa de atuar.

As bactérias podem também transmitir essa resistência adquirida para outras, através dos métodos de transformação, em que a bactéria consegue utilizar o DNA presente no meio; transdução, quando através de um vírus, uma bactéria transfere material genético à outra; conjugação, quando através de uma fímbria (pili) uma bactéria transfere partes do seu DNA à outra (EDENS, 2003).

Embora a transferência de resistência bacteriana seja um evento provável de ocorrer, dados sobre efeito negativos sobre o uso de antibióticos em rações animais na população humana ainda são limitados. Mesmo assim, para reduzir a probabilidade de resistência, a União Européia proibiu o uso de antibióticos como melhoradores de desempenho nos animais destinados ao consumo humano, permitindo seu uso apenas para o tratamento de enfermidades específicas.

A proibição do uso de antibióticos como melhorador de desempenho se deu primeiramente na Suécia em 1986, e seu exemplo foi seguido por outros países da União Européia (UE). A Avoparcina foi banida na Dinamarca (20 de Maio de 1995) e Alemanha (19 de Janeiro de 1996) sob o argumento de que este antibiótico glicopeptídeo produz resistência aos glicopéptidos administrados em medicina humana, sendo proibida por todos os países do bloco em 1997. A espiramicina foi proibida na Finlândia e na Dinamarca em 1998, devido a este produto ser utilizado em medicina humana. Posteriormente a UE adotou a Regulamentação (EC) número 2821/98 (UE, 2008), banindo o uso da virginamicina, da bacitracina de zinco, da espiramicina e do fosfato de tilosina. A EC número 2788/98 (UE, 2008), de 22 de dezembro de 1998, estabeleceu a proibição de Carbadox e Olaquinox da UE a partir de 1999, já a avilamicina, flavomicina, monensina e salinomicina tiveram seu uso banido da UE em 2006 (PENZ *et al.*, 2008).

Com a crescente restrição e proibição dos antimicrobianos usados como aditivos na alimentação animal, as possibilidades que se apresentam como alternativas ao uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho passam a ter maior relevância para a avicultura industrial.

2.2 Ação dos Fitogênicos no Organismo

As propriedades medicinais e aromáticas das plantas e de seus extratos têm sido observadas desde a antiguidade e muitos estudos tentam elucidar suas propriedades. O conhecimento sobre as plantas evoluiu em grande parte devido às novas tecnologias, que propiciaram o isolamento sistemático e a caracterização dos princípios ativos presentes nestes vegetais.

Os estudos com os extratos vegetais se iniciaram há cerca de 2.000 anos, com a obtenção dos óleos essenciais pelo método de destilação. A partir do século XIII, começaram a ser produzidos em farmácias e seus efeitos farmacológicos passaram a ser descritos (MENTEN *et al.*, 2014). Os óleos essenciais são compostos naturais, voláteis e com presença de metabólitos secundários. São conhecidos por sua propriedade bactericida, fungicida, virucida, podendo ser utilizados na conservação de alimentos e como antimicrobianos, analgésicos, sedativos, anti-inflamatórios, antiespasmódicos e anestésicos (BAKKALI *et al.*, 2008).

Pesquisas com extratos de plantas como alternativa ao uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho tem aumentado significativamente. Segundo Oliveira *et al.* (2006), as plantas com propriedades terapêuticas utilizadas no cuidado da saúde constituem uma importante fonte de novos compostos biologicamente ativos. As plantas produzem compostos secundários através de fatores genéticos e ambientais que são necessários à sua sobrevivência e preservação (MARTINS *et al.*, 1995). Muitos desses compostos são capazes de provocar reações nos organismos vivos e devido a esta característica são chamados de princípios ativos, caracterizando tais plantas como medicinais por possuírem atividade terapêutica devido à existência de um ou mais princípios ativos (MARTINS *et al.*, 1995).

Os extratos vegetais são extraídos das plantas e podem ser divididos em várias categorias: fenólicos e polifenólicos (fenóis simples e ácidos fenólicos, quinonas, flavonas, taninos), terpenos e óleos essenciais, alcalóides, lectinas e polipeptídeos (BONATO *et al.*, 2008). Os produtos à base de extratos vegetais podem ser compostos por uma mistura de princípios ativos isolados e/ou óleos essenciais, ou oleorresinas. O óleo essencial caracteriza-se por ser uma mistura complexa de componentes ativos obtidos através de um processo de vaporização (UTIYAMA, 2004), já a oleorresina é resultante da utilização de solventes por percolação se tornando uma substância líquida ou pastosa constituída por resina e substâncias químicas e orgânicas (MENTEN *et al.*, 2014).

A composição e a concentração dos constituintes metabólicos secundários da planta estão relacionadas à espécie vegetal, parte utilizada, concentração dos princípios ativos, idade da planta, época da colheita, conservação, preparo, condições ambientais a qual as plantas são submetidas e do método de extração (HUYGHEBAERT, 2005), podendo existir uma variação nos efeitos biológicos.

Quando utilizados na alimentação animal, os óleos essenciais são absorvidos no intestino pelos enterócitos e rapidamente metabolizados no organismo. Os produtos são transformados em compostos polares, através da conjugação com o glicuronato, e excretados na urina, ou outros princípios ainda podem ser eliminados pela respiração na forma de dióxido de carbono (MENTEN *et al.*, 2014). Devido à rápida metabolização e a curta meia vida dos compostos ativos o risco de acúmulo nos tecidos é mínimo (RIZZO *et al.*, 2008).

Muitas pesquisas têm sido realizadas a fim de demonstrar os efeitos que os extratos vegetais podem imprimir sobre o desempenho dos animais. Os mecanismos de ação destes aditivos ainda não estão totalmente esclarecidos, mas podem ser destacados o efeito antimicrobiano, o efeito antioxidante e o efeito sobre a digestibilidade de nutrientes.

2.2.1 Efeito antimicrobiano

A atividade antimicrobiana é um dos efeitos mais notórios de muitos dos extratos vegetais, existindo diversas referências na literatura citando esta atividade *in vitro* (DORMAN e DEANS, 2000; NASCIMENTO *et al.*, 2000; ARAÚJO e LEON, 2001; BONA *et al.*, 2012; WITKOWSKA *et al.*, 2013). Estudos realizados demonstraram que a atividade mínima inibitória de alguns extratos vegetais em microrganismos é tão eficiente quanto a de alguns antimicrobianos. A intensidade da atividade antibacteriana vai ser diferente conforme a espécie da planta.

Os modos como os princípios ativos dos extratos vegetais agem sobre as células bacterianas são muito semelhantes aos dos antimicrobianos. A extremidade hidrofóbica de alguns compostos de extratos interage com a membrana celular de algumas bactérias, alterando sua permeabilidade para cátions, ocorrendo interrupção de processos essenciais como transporte de elétrons, translocação de proteínas e outras reações dependentes de enzimas, resultando em descontrole no gradiente de íons e levando as células bacterianas à morte. Há também compostos que retiram grupamentos das enzimas bacterianas e inativam-nas (DORMAN e DEANS, 2000; UTIYAMA, 2004). Já as bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa que contém lipossacarídeos, formando uma superfície hidrofílica, que cria uma barreira para as substâncias hidrofóbicas como os óleos essenciais (DORMAN e DEANS, 2000).

Os mecanismos de ação de alguns compostos dos óleos essenciais podem variar, sendo possível sua ação sobre bactérias gram-positivas e gram-negativas. O carvacrol e o timol, segundo Lambert *et al.* (2001), parecem tornar a membrana permeável, pois destroem a membrana externa de bactérias gram-negativas liberando os lipopolissacarídeos e aumentando a permeabilidade da membrana citoplasmática ao ATP.

Em estudo avaliando a atividade antimicrobiana *in vitro* de alguns óleos essenciais, Santurio *et al.* (2007) observaram que os óleos essenciais de orégano, orégano mexicano, tomilho e canela apresentaram atividade bactericida frente a *Escherichia coli* isolada de fezes de aves e bovinos, utilizando concentrações bactericidas mínimas, definidas como as menores concentrações dos óleos essenciais capazes de causar a morte do inóculo.

Um composto vegetal contendo óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta vermelha foi utilizado na alimentação de frangos de corte no estudo de Bona *et al.* (2012) para avaliar o controle de *Salmonella* e *Clostridium perfringens*. Seu uso reduziu lesões específicas de *E. máxima* e *E. tenella*, e também a contagem de unidades formadoras de colônias de *Clostridium perfringens* no conteúdo do ceco das aves, assim como diminuiu a excreção de *Salmonella* após inoculação.

2.2.2 Efeito antioxidante

Os antioxidantes são definidos como qualquer substância presente em baixas concentrações, que retardam ou previnem significativamente a oxidação de substratos oxidáveis (HALLIWELL, 1995, citado por GUIDOTTI, 2011).

As substâncias antioxidantes podem atuar nas membranas das células e/ou alimentos de diversas maneiras: sequestro de radicais livres, inibição de catalizadores (inativação de íons metálicos); remoção de compostos reativos ao oxigênio; sequestro de oxigênio; destruição de peróxidos, prevenção da formação de radicais e diminuição da concentração do oxigênio local (LABUZA *et al.*, 1971).

Os compostos ativos mais comumente encontrados com potencial antioxidante são as substâncias que apresentam em sua estrutura química compostos fenólicos, flavonóides e terpenóides (TRAESSEL *et al.*, 2011). Os fenóis atuam como doadores de hidrogênio para os radicais peróxidos produzidos durante o primeiro passo da oxidação lipídica e retardam a formação de hidroxi-peróxidos. A oxidação lipídica é um grande problema encontrado no processamento e armazenamento de produtos refrigerados. Ela afeta a qualidade do produto devido à perda de cor, odor e sabor, e encurta o prazo de validade (GUIDOTTI, 2011).

Uma alta taxa de inclusão de orégano diminuiu a oxidação lipídica das amostras de tecidos de frangos de corte conforme observado por Botsoglou *et al.* (2002), sugerindo que a dieta com óleo essencial de orégano tem um efeito antioxidante.

Ao avaliarem 32 espécies de extratos de plantas *in vitro*, Wojdylo, Osmianski e Czemerys (2007) observaram correlação positiva entre o conteúdo de fenólicos dos compostos e sua capacidade antioxidante. Quanto maior a presença dos compostos fenólicos OH, maior a capacidade de doar hidrogênio para o radical peróxido, retardando a formação dos produtos da oxidação.

Alguns princípios ativos, além de possuírem capacidade antioxidante, têm mostrado ação na elevação da atividade de enzimas antioxidantes. As enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase atuam diretamente na defesa das células e tem maior atividade em tecidos específicos como fígado, bursa, rins e testículos (SURAI, 2002). Na célula, a catalase reage com o peróxido de hidrogênio, gerando água e oxigênio molecular, protegendo-as da toxicidade deste peróxido e da peroxidação lipídica (BARREIROS e DAVID, 2006).

2.2.3 Efeito sobre a digestibilidade

Alguns trabalhos relatam o aumento da digestibilidade de nutrientes com o uso na dieta de extratos vegetais. Essa melhoria pode ocorrer pelos estímulos destes compostos sobre as secreções digestivas e enzimas digestivas, pela alteração morfométrica dos órgãos e pelo combate aos microrganismos patogênicos (UTIYAMA, 2004).

O efeito estimulante na produção de enzimas e secreções intestinais é o mecanismo mais estudado na tentativa de explicar a melhora na digestibilidade. É suposto que alguns extratos vegetais possam estimular a produção de saliva e dos sucos gástrico e pancreático, beneficiando a secreção enzimática e melhorando a digestibilidade dos ingredientes (MELLOR, 2000). Outros mecanismos podem estar atuando sobre a digestibilidade. Segundo

Hernández *et al.* (2004), a morfometria dos órgãos parece não ser alterada pelos extratos vegetais, mas a modulação da microbiota e a manutenção da integridade do epitélio intestinal podem ser efeitos importantes dos extratos vegetais.

Maior atividade de amilase em aves aos 21 dias de idade ocorreu com o uso de uma mistura comercial de óleos essenciais contendo timol como componente ativo (LEE *et al.*, 2004). Utilizando o mesmo produto, Jang *et al.* (2007) observaram que a produção de tripsina, amilase e maltase foram superiores nos frangos que receberam a mistura comercial até os 35 dias de idade.

A inclusão de aditivo fitogênico contendo óleo essencial de tomilho e anis na dieta de frangos de corte provocou efeitos diferenciados em relação à digestibilidade. Em estudo realizado por Amand *et al.* (2011), utilizando níveis de inclusão de 150, 750 e 1.500 mg/ kg de ração, os autores observaram um aumento linear da digestibilidade aparente ileal de cinzas, proteína bruta, gordura, cálcio e fósforo em relação ao aumento da dose dos fitogênicos, e esse resultado foi explicado pela melhoria na digestibilidade dos nutrientes no intestino delgado.

2.3 Orégano, Canela, Pimenta-do-reino e Pimenta Vermelha

Os óleos essenciais, principalmente extraídos através do processo de destilação, são preferencialmente usados na produção dos aditivos, pois neles estão concentrados os princípios ativos das plantas (WINDISCH *et al.*, 2008). Atualmente são conhecidos mais de 3000 óleos essenciais, dos quais aproximadamente 300 são comercialmente importantes tanto para a indústria de fragrâncias e aromas, como para a produção de aditivos para animais (HERMES *et al.*, 2012).

O orégano (*Origanum vulgare* L.) é uma planta aromática que possui na composição química de suas folhas e inflorescências até 1% de óleo essencial, sendo os seus principais constituintes o carvacrol (com teor podendo ultrapassar 70%), timol, borneol, cineol, terpineol, β -bisaboleno, cariofileno, *p*-cimeno, linalol, α -pineno, β -pineno e α -terpineno (SIVROPOULOU *et al.*, 1996; GÓMEZ *et al.*, 2007; LORENZI e MATOS, 2008). A nomenclatura oficial do carvacrol, segundo a IUPAC, é 2-metil-5-(1-metiletil)-fenol, apresenta fórmula molecular C₁₀H₁₄O e peso de 150,22 g/mol. Esse monoterpênóide fenol é naturalmente encontrado nos óleos essenciais do orégano, tomilho e outros. Apresenta-se em forma líquida de coloração amarela claro, com densidade de 0,975 g/mL (20°C). Possui característica pungente e odor aromático, semelhante ao orégano, bem como baixa solubilidade em água. Seu ponto de fusão é de 2°C e de ebulição 234 – 236°C. O carvacrol é um isômero de posição do timol, que também é encontrado no óleo essencial do orégano (BURT, 2004).

O óleo essencial de orégano tem sido utilizado em experimentos pelos seus possíveis efeitos sobre o metabolismo animal, como antibacteriano, anticoccidiano, antifúngico, antioxidante, antiinflamatório e sobre o sistema imune (SIVROPOULOU *et al.*, 1996; ADAM *et al.*, 1998; BOTSOGLU *et al.*, 2002; WALDENSTEDT, 2003; OVIEDO-RONDÓN *et al.*, 2006; AL-HOWIRINY *et al.*, 2009).

Os principais fenóis do extrato de orégano, o carvacrol e o timol, segundo Fukayama *et al.* (2005), agem sobre a membrana celular bacteriana, impedindo sua divisão, causando desidratação nas células e impedindo a sobrevivência de bactérias patogênicas, apresentando

grande efeito como agente microbiano. Botsoglou *et al.* (2002) observaram que a inclusão de 100 mg de orégano por Kg de ração diminuiu a oxidação lipídica das amostras de tecidos de frangos de corte, sugerindo que a dieta com óleo essencial de orégano tem um efeito antioxidante.

A canela é uma árvore de ciclo perene cuja parte interna da casca do seu tronco é rica em óleo essencial composto principalmente pelo princípio ativo cinamaldeído, enquanto as folhas são fontes de eugenol. Ensaio farmacológicos mostraram que o óleo essencial e seu principal componente, o cinamaldeído, têm atividade antibacteriana (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*, entre outros), antifúngica e também antioxidante (CHANG *et al.*, 2001; BELLAVER, 2005), apresentando ainda ação estimulante sobre as enzimas digestivas (LEE *et al.*, 2004).

Em estudos realizados por Faix *et al.* (2009) é observada a ação antioxidante do óleo essencial da canela incluída na ração para frangos de corte através da ativação de enzimas antioxidantes presentes no organismo das aves, além de estimular a atividade fagocitária dos macrófagos, melhorando a resposta imunológica dos animais.

A pimenta-do-reino é um arbusto trepador e perene da família das peperáceas, originária da Índia (GAIA *et al.*, 2004). A piperina (1-piperoyl piperidine) é um alcalóide ativo presente em várias espécies de pimenta, como a pimenta do reino (*Piper nigrum* L.). Pode ser encontrada em todas as partes da planta, sendo extraída em maior quantidade a partir dos frutos secos cujo rendimento varia de 3 a 7% (IKAN, 1991). A piperina apresenta diversas atividades biológicas e farmacológicas: não deixam resíduos no animal ou seus derivados (BHAT e CHANDRASEKHARA, 1986); antiparasitária (GHOSHAL, 1996); antipirética, analgésica e antiinflamatória (VIRINDER *et al.*, 1997); contraceptivo e antiespermatogênico (MALINI *et al.*, 1999); aumenta a biodisponibilidade de algumas drogas no organismo (KARAN *et al.*, 1999); antioxidante (MITTAL e GUPTA, 2000); inseticida (ESTRELA *et al.*, 2003).

A capsaicina é um alcalóide encontrado em maior quantidade nos frutos das espécies do gênero *Capsicum* e seu conteúdo depende do estágio de desenvolvimento do fruto (PEREIRA, 2007). É o principal ativo da pimenta vermelha e tem se mostrado eficiente em aumentar a secreção de enzimas pancreáticas e intestinais, resultando em um melhor processo digestivo (BRUGALI, 2003).

Os compostos responsáveis pela ardência da pimenta são os capsaicinóides, um grupo de 12 diferentes compostos, sendo um dos principais a capsaicina. Além deste, outros grupos de compostos são encontrados na pimenta, como alcalóides, flavonóides, terpenóides, saponinas, entre outros, tanto no fruto como nas folhas da pimenta (SOUMYA e NAIR, 2012).

Em estudo utilizando diferentes concentrações de piperina (0, 60, 120 e 180 mg Kg⁻¹) na ração para frangos de corte de 7 a 42 dias de idade, Cardoso *et al.* (2012) observaram que a inclusão de 60 mg Kg⁻¹ interferiu positivamente no peso das aves e na conversão alimentar no período de 36 a 42 dias de idade, e ainda destacaram um aumento da superfície de absorção no duodeno e no íleo, concluindo que a suplementação de piperina não resultou em diminuição dos parâmetros de produção dos frangos.

Utilizando carvacrol, cinamaldeído e capsaicina, Jamroz *et al.* (2006) observaram aumento da produção de secreções gastrointestinais e diminuição do número de *E. coli* e *C.*

perfringens em frangos de corte aos 21 dias de idade. A produção de secreções pode afetar a adesão dessas bactérias na mucosa intestinal e promover mudanças na microbiota intestinal e evitar a proliferação de patógenos (JEURISSEN *et al.*, 2002).

2.4 Atividade Enzimática Pancreática em Aves

As glândulas secretoras de todo o trato gastrointestinal realizam principalmente duas funções: secreção de enzimas digestivas em quase todos os segmentos, e fornecimento de muco através das glândulas mucosas, com objetivo de lubrificação e proteção do trato digestório. Essas secreções são produzidas pelas glândulas salivares, esôfago, papo, estômago, pâncreas e intestino e são capazes de fornecer diferentes tipos de produtos responsáveis pela digestão dos nutrientes.

O pâncreas é um órgão com importante papel na digestão. Possui características exócrinas e endócrinas, com produção e secreção de enzimas digestivas e hormônios, respectivamente. É localizado na alça duodenal e composto pelos lobos ventral e dorsal, conectados distalmente, e possui ductos que se abrem na parte ascendente do duodeno, transportando o suco pancreático à extremidade distal do duodeno (ARTONI *et al.*, 2014).

A porção exócrina do pâncreas produz e secreta o suco pancreático, que contém água, bicarbonato de sódio e enzimas digestivas. A principal função dos íons carbonato e da água é neutralizar o pH ácido proveniente do esvaziamento do estômago. Esse suco é secretado pelo ducto pancreático para o duodeno. A porção endócrina do pâncreas (ilhotas de Langerhans) sintetiza e secreta hormônios, como insulina e glucagon, na corrente sanguínea (DENBOW, 2000, ARTONI *et al.*, 2014).

As células exócrinas do pâncreas possuem formato cônico ou piramidal e são dispostas em ácinos. Essas células são especializadas para a secreção das enzimas digestivas e zimogênios. As proteínas produzidas são armazenadas em grânulos de zimogênio, que vão do ducto pancreático para o duodeno. As enzimas são secretadas em sua forma de precursores enzimáticos para evitar a autodigestão das células (MACARI *et al.*, 2002).

Os zimogênios de enzimas proteolíticas são ativados no duodeno. Quando o tripsinogênio entra, a enteropeptidase (enteroquinase) hidrolisa a única ligação lisina-isoleucina no tripsinogênio e produz tripsina. É a etapa mais importante para iniciar a digestão da proteína no intestino delgado. Após este processo, a tripsina irá ativar outras proteases inativas, como o quimotripsinogênio, a proelastase e a procarboxipeptidase (STRYER, 1988).

Ao contrário das enzimas proteolíticas, a lipase e a amilase pancreática são secretadas no duodeno já em suas formas ativas. As lipases degradam o triglicerídeo em ácidos graxos e glicerol e a amilase degrada o carboidrato em oligossacarídeos (DENBOW, 2000). A quantidade diária secretada da amilase, lipase e proteases em frangos aumentam com o avançar da idade. Com relação à atividade enzimática, a tripsina, amilase e lipase no pâncreas diminuem nos primeiros 3 a 6 dias após a eclosão, aumentando, no entanto, entre 10% a 20% até o 21º dia de idade. Já, a quimiotripsina aumenta gradualmente a sua atividade até o 14º dia, mantendo-se constante após esse período (MACARI *et al.*, 2002).

Compostos ativos como a capsaicina, o eugenol e o cinamaldeído, princípios ativos da pimenta vermelha, do cravo e da canela respectivamente, tem se mostrado eficientes em

estimular as enzimas pancreáticas e intestinais em animais monogástricos, tornando o processo digestivo mais eficiente (BRUGALI, 2003).

Analisando frangos aos 35 dias de idade, Jang *et al.* (2007) utilizaram óleo essencial composto por timol na ração e relataram aumento na produção de tripsina, amilase e maltase. De acordo com Brugali (2003), a capsaicina é importante princípio ativo da pimenta e estimula a secreção de enzimas pancreáticas, promove redução da viscosidade intestinal e melhora os processos digestivos.

2.5 Hematologia em Aves

As provas laboratoriais sanguíneas podem servir como ferramentas importantes para auxiliar no monitoramento da saúde das aves, no diagnóstico de doenças e também para tratamento e avaliar as condições de saúde do organismo.

A aplicação da hematologia é mais utilizada para monitorar a saúde geral do animal e avaliar sua capacidade para transportar oxigênio e se defender contra os agentes infecciosos. O hemograma é um exame laboratorial de rotina que avalia a quantidade e qualidade das células sanguíneas e dos trombócitos. A avaliação bioquímica dos metabólitos do sangue tais como proteínas, ácido úrico, colesterol e outros, pode indicar o estado de funcionamento de órgãos como o fígado, os rins e os músculos (SCHMIDT *et al.*, 2007).

O hemograma das aves é composto por contagem total de eritrócitos e leucócitos, determinação do hematócrito e dosagem da concentração de hemoglobina. A contagem diferencial de leucócitos é realizada em esfregaços sanguíneos e são diferenciados os heterófilos, linfócitos, eosinófilos, monócitos e basófilos. Os índices hematimétricos, volume globular médio (VGM) e concentração hemoglobina globular média (CHGM) são obtidos através de fórmulas (SCHMIDT *et al.*, 2007).

Os eritrócitos das aves são nucleados, e seu tempo de vida é mais curto que o dos mamíferos. Os eritrócitos maduros são células ovais ou elípticas com um núcleo central que acompanha a forma da célula, coloração púrpura escuro com cromatina agrupada e uniforme. Em caso de anemia, esta pode ser evidenciada pela diminuição na contagem total de eritrócitos, na diminuição do hematócrito e das concentrações de hemoglobina. Na anemia severa, a forma do eritrócito pode apresentar modificações, com apresentações de células redondas e com núcleo oval (CARDOSO e TESSARI, 2003, SCHMIDT *et al.*, 2007).

Os heterófilos são as principais células fagocíticas envolvidas na resposta inflamatória. São arredondados, medem de 5,1 a 11,4 micra de diâmetro, seu citoplasma é claro e contém grânulos roxos ovais ou alargados em forma de bastão. O núcleo é de cor rosada, lobulado ou sem lóbulos e são células ameboides. Correspondem aos neutrófilos nos mamíferos. Esses fagócitos são importantes mediadores da imunidade natural das aves, especialmente em aves jovens. Estas células são capazes de ingerir e matar bactérias e podem controlar uma infecção. Podem também fagocitar outras células como as hemácias (CARDOSO e TESSARI, 2003).

A morfologia dos linfócitos das aves é semelhante à dos mamíferos. São células redondas, de margem às vezes irregular, com o núcleo posicionado centralmente ou ligeiramente excêntrico. Nas aves os linfócitos são produzidos na medula óssea e migram para o timo ou para a bursa de Fabrício onde sofrem maturação e se tornam funcionais. Os linfócitos que sofrem maturação na bursa de Fabrício são chamados de linfócitos B e são

responsáveis pela produção de anticorpos. Já os linfócitos que são maturados no timo são chamados de linfócitos T, que ativam células para destruição de antígenos e controlam a resposta imunológica (ALMEIDA *et al.*, 2013).

Os eosinófilos atuam na membrana plasmática da célula infectada e liberam seus grânulos que inibe a histamina encontrada nos basófilos e mastócitos, moderando assim as reações de anafilaxia, na presença das IgG e IgE. Possuem mecanismo desintoxicante e são importantes na regulação do processo inflamatório (CARDOSO e TESSARI, 2003).

Os monócitos são células maiores que os linfócitos, com tamanho similar aos heterófilos. Sua forma geralmente é arredondada, com projeções ou se moldando às células vizinhas. Representam 1,0 a 6,5% dos leucócitos circulantes, com número absoluto médio de 1.500 monócitos/ μL (BORSA, 2009).

Os basófilos estão presentes no sangue periférico e aumentam em processos necróticos, nas etapas iniciais da inflamação e situações de estresse severo em aves. Quando há presença de alergen e da IgE, o basófilo degranula-se, de forma semelhante aos eosinófilos. Os basófilos são arredondados, medem de 4,9 a 19,9 micra de diâmetro, o citoplasma é claro, com grânulos de cor púrpura, o núcleo é azul sem lobulações. Sua função nas aves não está bem definida. Associam-se a situações de tensão severa ou prolongada e a processos tóxicos. (MORGULIS, 2002; CARDOSO e TESSARI, 2003).

Os trombócitos podem participar de funções de defesa do organismo, além de participar da coagulação sanguínea, mas sua principal característica é que são células altamente fagocíticas, que possuem capacidade de aderir e de fagocitar inúmeras partículas estranhas. Apresentam o citoplasma sem coloração e com grânulos vermelhos. O núcleo é púrpura escuro. Os valores normais variam entre 20.000 a 30.000/ μL ou 10 a 15/1000 eritrócitos (SCHMIDT *et al.*, 2007, CARDOSO e TESSARI, 2003).

Em estudo utilizando níveis de piperina (0, 1,12, 2,25 e 4,5 mg kg^{-1} peso vivo) na dieta para frangos de corte, Cardoso *et al.* (2008) observaram aos 14 dias de idade dos frangos, um aumento no número total e específico de leucócitos nas aves que receberam 2,25 e 4,5 mg Kg^{-1} e aumento do número de heterófilos em todos os grupos testados quando comparados ao grupo controle, sugerindo estimulação do sistema imunológico das aves.

2.6 Microbiota Intestinal

A formação da microbiota nas aves inicia imediatamente após a eclosão, quando os pintos começam a ter contato com o ambiente onde estão presentes os microrganismos (SAVAGE, 1977). O número e a composição dos microrganismos variam consideravelmente ao longo do trato gastrointestinal. No intestino delgado, o pH é neutro, com médias de 6,4 no duodeno, 6,6 no jejuno e 7,2 no íleo, e os microrganismos colonizam este segmento. O ceco é reconhecido como o segmento de maior colonização de microrganismos, com média de pH de 6,9 (MAIORKA, 2004, VIOLA *et al.*, 2007, SANTANA *et al.*, 2011).

De modo geral, o intestino delgado é colonizado por bactérias microaerófilas facultativas, com sua representação na microbiota, que são os *Lactobacillus* (70%), *Clostridiaceae* (11%), *Streptococcus* (6,5 %) e *Enterococcus* (6,5%). O ceco por sua vez, é colonizado predominantemente por bactérias anaeróbicas obrigatórias, que são *Clostridiaceae* (65%), *Fusobacterium* (14%), *Bacteroides* (5%) e bactérias microaerófilas facultativas que são *Lactobacillus* (8%) e *Streptococcus* e *Enterococcus* (LU *et al.*, 2003; PEDROSO, 2011).

Devido ao tempo de permanência da digesta no ceco ser mais longo e as condições mais estáveis, a capacidade de proliferação microbiana nesta porção do intestino é mais intensa, apresentando contagens de microrganismos superiores às encontradas no intestino delgado.

A microbiota intestinal é composta por microrganismos tanto benéficos quanto prejudiciais. Normalmente a microbiota encontra-se em equilíbrio e qualquer mudança nesse equilíbrio pode resultar em alterações no desempenho produtivo e em infecções intestinais (SAVAGE, 1977). O desequilíbrio da microbiota é chamado de disbiose. Em situações como esta, a população microbiana patogênica age no intestino, diminuindo a absorção de nutrientes, aumentando a espessura da mucosa e a velocidade de passagem da digesta. O aproveitamento dos nutrientes pelo hospedeiro se torna ineficaz pelo aumento da velocidade de renovação dos enterócitos e diminuição da altura dos vilos, aumentando a profundidade das criptas da mucosa intestinal, levando a redução na absorção dos nutrientes e pela competição das bactérias com o hospedeiro por nutrientes (FLEMMING, 2005).

Jang *et al.* (2007) adicionaram óleo essencial composto por timol em rações de frangos e verificaram que a ração contendo o aditivo fitogênico proporcionou redução de *Escherichia coli*, de modo similar ao observado pelo tratamento com o antibiótico. Em estudo realizado por Santurio *et al.* (2007), os autores utilizaram óleos essenciais de orégano, tomilho e canela em 60 amostras de *Salmonella* entérica isoladas de carcaças de frangos e observaram que os óleos foram capazes de inibir o crescimento dos principais sorovares de *Salmonella* entérica. Segundo os autores, podem ser esperados melhores resultados com a associação de óleos essenciais, por proporcionar sinergismo entre os óleos.

CAPÍTULO I

CARVACROL, CINAMALDEÍDO, CAPSAICINA E PIPERINA: AÇÃO NA METABOLIZABILIDADE DE NUTRIENTES, MORFOMETRIA INTESTINAL E ATIVIDADE ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE

RESUMO

BARROSO, Débora Costa. **Carvacrol, cinamaldeído, capsaicina e piperina: ação na metabolizabilidade de nutrientes, morfometria intestinal e atividade enzimática antioxidante**. 2016. 13p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da adição de fitogênicos na ração de frangos de corte sobre a metabolizabilidade dos nutrientes da ração e a atividade da enzima antioxidante catalase no fígado. Foram utilizados os seguintes tratamentos: CP: ração referência + antimicrobiano (avilamicina); CN: ração referência; PIP: ração referência + 60 mg/Kg de piperina; CACICAP: ração referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol e CAP: ração referência + 15 mg/Kg de capsaicina, sendo cinco tratamentos e seis repetições por tratamento, 10 frangos por repetição, sendo 60 frangos por tratamento e totalizando 300 frangos de corte. As rações referência foram formuladas para atender as exigências nutricionais para cada fase de vida dos frangos (pré-inicial, inicial e crescimento). O experimento foi realizado em gaiolas metabólicas, sendo cada gaiola uma repetição com 10 frangos. As aves foram colocadas nas gaiolas ao primeiro dia de idade e foi realizada coleta de fezes para avaliação da metabolizabilidade de nutrientes. A coleta teve duração de cinco dias, do 14º ao 18º dia de idade, sendo realizadas duas vezes ao dia. As excretas foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para posterior análise da matéria seca, proteína bruta e energia metabolizável. Foi realizada análise da morfometria intestinal, coletando-se intestinos de 4 frangos por tratamento para medição de altura de vilosidades, profundidade de cripta e relação vilo:cripta. Para a análise da atividade da enzima catalase, os frangos foram abatidos aos 36 dias de idade, onde os fígados foram coletados para a determinação das atividades enzimáticas. Os dados foram analisados por programa estatístico e quando verificado efeito significativo foi utilizado o teste SNK para comparação das médias com significância de 5% ($p < 0,05$) e o teste Dunnett para comparação com o controle negativo. Para os resultados de metabolizabilidade, não foram encontrados efeitos significativos ($p > 0,05$) entre as rações testadas, resultado igualmente observado para a enzima catalase, que demonstrou a mesma atividade para todos os tratamentos utilizados. As análises realizadas neste estudo não foram suficientes para constatar a ação do cinamaldeído, capsaicina, carvacrol e piperina sobre a digestibilidade de nutrientes e de sua ação sobre a atividade enzimática antioxidante da catalase. Foi observada maior altura de vilosidade do íleo ($p < 0,05$), com os tratamentos PIP e CACICAP, comparados ao tratamento CN. Os fitogênicos testados podem ser utilizados em rações para frangos de corte, em especial em rações sem a inclusão de antimicrobianos como melhorados de desempenho.

Palavras-chave: Fitogênicos, Enzimas antioxidantes, Metabolizabilidade.

ABSTRACT

BARROSO, Débora Costa. **Carvacrol, cinnamaldehyde, capsaicin and piperine: action in the metabolism of nutrients, intestinal morphology and antioxidant enzyme activity.** 2016. 13p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

This study aimed to evaluate the effects of adding phytogetic in the feed of broilers on the metabolism of the feed nutrients and antioxidant activity of catalase enzyme in the liver. The following treatments were used: CP: basal diet + antibiotic (avilamycin); CN: basal diet; PIP: basal diet + 60 mg / kg piperine; CACICAP: basal diet + 150 mg / kg of cinnamaldehyde, capsaicin and carvacrol and CAP: basal diet + 15 mg / kg capsaicin, with five treatments and six replicates per treatment, 10 chickens per replication, and 60 chickens per treatment and a total of 300 broilers. The basal diets were formulated to meet the nutritional requirements for each of chickens life stage (pre-initial, initial and growing). The experiment was conducted in metabolic cages, each cage a repeat with 10 chickens. The birds were placed in their cages the first day of age and feces collection was performed to evaluate the metabolism of nutrients. The collection lasted five days, from the 14th to the 18th day of age, being held twice a day. Excreta were packed in plastic bags and frozen for later analysis of dry matter, crude protein and metabolizable energy. Analysis of intestinal morphometry was performed by collecting intestines 4 chickens per treatment for measuring villus height, crypt depth and villus: crypt. For the analysis of the catalase enzyme activity, the chickens were slaughtered at 36 days of age, where the livers were collected for the determination of enzyme activities. Data were analyzed by statistical program and when found significant effect was the SNK test used to compare means with significance of 5% ($p < 0.05$) and Dunnett's test for comparison with the negative control. For the results of metabolism, were not found significant effects ($p > 0.05$) between the diets, result also observed for the enzyme catalase, which showed the same activity for all treatments. The analyzes performed in this study were not sufficient to establish the action of the cinnamaldehyde, capsaicin, carvacrol and piperine on the digestibility of nutrients and its effect on the antioxidant enzyme activity of catalase, but demonstrated effect on villus height of the ileum ($p < 0.05$), where greater height was observed in PIP and CACICAP treatment compared to treatment CP. The tested phytogetic can be used in diets for broilers where there is no antimicrobial as performance improved.

Keywords: Antioxidant enzymes, Metabolizability, PhytoGENICS.

1 INTRODUÇÃO

Muitos extratos vegetais têm sido utilizados como base de medicamentos modernos. Estes extratos são reconhecidos por seus efeitos antimicrobianos (BONA *et al.*, 2012; WITKOWSKA *et al.*, 2013), antioxidantes (DEL RÉ e JORGE, 2012; HASHEMIPOUR *et al.*, 2013), estimulantes do sistema digestório animal (AMAND *et al.*, 2011; PULICI *et al.*, 2014), entre outros, sendo tradicionalmente utilizados na terapia de muitas doenças no mundo ao longo do tempo.

O uso de fitogênicos na alimentação de frangos de corte tem sido uma prática crescente na avicultura industrial. Seus mecanismos de ação ainda não estão completamente elucidados, mas, segundo Diaz-Sanchez *et al.* (2015), os extratos vegetais agem rompendo a membrana celular de organismos patógenos; modificando a membrana celular, afetando sua hidrofobicidade e consequentemente, sua virulência; estimulando o sistema imune, especificamente ativando os linfócitos e macrófagos; protegendo a mucosa intestinal de bactérias patogênicas colonizadoras e promovendo o crescimento de bactérias benéficas, como lactobacilos e bifidobactérias.

A integridade das células epiteliais da mucosa pode assegurar o bom desempenho e produção das aves (FURLAN *et al.*, 2004). A ação dos fitogênicos sobre a morfometria intestinal tem sido demonstrada na literatura (CARRIJO *et al.*, 2005; FUKAYAMA *et al.*, 2005; AWAAD *et al.*, 2014). Em experimento realizado por Silva *et al.* (2011), com frangos alimentados com óleo essencial de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), os autores observaram quanto aos aspectos morfométricos do intestino que aos 21 dias de idade, essas aves apresentaram maior relação vilo:cripta, concluindo uma melhoria na superfície absorptiva intestinal dos frangos, quando comparados às aves alimentadas sem melhoradores de desempenho.

Devido à variedade de princípios ativos, diferentes plantas podem afetar o processo digestivo diferentemente. Alguns extratos podem promover a redução da viscosidade intestinal (BRUGALI, 2003), outros podem estimular a função de enzimas (AL-KASSIE *et al.*, 2009). Além desses efeitos, os extratos vegetais podem acelerar a digestão e diminuir o tempo de passagem da digesta pelo trato digestório (FRANKIC *et al.*, 2009).

Young *et al.* (2003) adicionaram orégano à ração de frangos e não observaram efeito significativo sobre a atividade da enzima catalase, resultado semelhante ao encontrado por Faix *et al.* (2009) utilizando canela, porém estes observaram maior atividade da enzima glutathione peroxidase. A combinação de timol e carvacrol em suplementação na dieta de frangos de corte para avaliar seus efeitos na atividade de enzimas antioxidantes, resultaram em elevação da atividade das enzimas glutathione peroxidase e superóxido dismutase no fígado (HASHEMIPOUR *et al.*, 2013). Foi utilizado no estudo níveis crescentes de timol e carvacrol (0, 60, 100 e 200 mg/Kg), e observou-se resposta linear, sugerindo que esses ativos desempenham um papel de agente protetor contra danos nos tecidos dos frangos (HASHEMIPOUR *et al.*, 2013).

Em estudo realizado por Hernandez *et al.* (2004) foram utilizados dois extratos vegetais contendo óleo essencial de orégano, canela e pimenta e extrato de sálvia, tomilho e alecrim na ração para frangos de corte, tendo os autores concluído que a suplementação com os extratos vegetais promoveu melhor digestibilidade dos nutrientes. Da mesma forma Mountzouris *et al.* (2011), utilizando diferentes concentrações de orégano, anis e laranja,

observaram melhor energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio utilizando 80 mg do aditivo nas rações para frangos de corte.

Já Barreto *et al.* (2008) e Petrolli *et al.* (2012) ao adicionarem orégano, alho, canela e pimenta vermelha na dieta de frangos de corte não observaram efeito significativo destes sobre a energia metabolizável aparente. Rizzo *et al.* (2010) fornecendo dietas com diferentes misturas de extratos vegetais (óleos essenciais de cravo, tomilho, canela e pimenta; óleos essenciais sintéticos de orégano e canela e óleo-resina de pimenta microencapsulados; óleo de eucalipto, óleo essencial de canela-da-china, folhas de boldo-do-chile e sementes de fenogregó), não observaram melhora na energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio e na digestibilidade da proteína bruta.

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da mistura dos ativos microencapsulados carvacrol, cinamaldeído e capsaicina, do ativo microencapsulado individualmente capsaicina e o princípio ativo piperina na metabolizabilidade dos nutrientes, na integridade intestinal através de sua morfologia e na atividade enzimática da catalase no fígado de frangos de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e Período Experimental

O experimento foi realizado no laboratório de Ensaio de Digestibilidade do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens (DNAP) do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica-RJ, latitude 22° 45' S, longitude 43° 41' W, no período de 16 de setembro a 23 de outubro de 2013. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética na Pesquisa da UFRRJ, através do processo 23083.010805/2013-17, atendendo aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais e estando de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal.

As temperaturas máximas e mínimas foram anotadas diariamente com a utilização de termômetros de bulbo seco localizados em dois pontos distintos da sala e estão apresentadas na tabela a seguir.

Tabela 1. Temperatura máxima, mínima e média (°C) registradas durante o período experimental

Períodos (dias)	Temperaturas (°C)		
	Máxima	Mínima	Média
00 a 07	28,63	26,00	27,31
08 a 14	24,71	23,14	23,93
15 a 21	25,96	24,39	25,17
22 a 28	26,71	24,67	25,64
29 a 36	28,33	26,22	27,38
00 a 36	26,85	24,84	25,85

2.2 Animais, Instalações e Manejo

Foram utilizados 300 pintos de corte machos, pesando em média 37 gramas, da linhagem Hubbard, de 01 a 36 dias de idade, vacinados contra Bouda Aviária e doença de Marek no incubatório. Os pintos foram alojados em baterias metálicas de três andares, sendo cada andar subdividido em dois compartimentos (0,90 m x 0,85 m x 0,40 m), cada um contendo lâmpada incandescente de 60 watts para aquecimento dos pintos, alojando 10 pintos, que foi considerado como unidade experimental, contendo comedouro tipo bandeja e bebedouros infantis tipo pressão até o 14º dia de idade das aves. Após essa idade, os comedouros e bebedouros foram substituídos pelo tipo calha, contendo em cada unidade experimental um comedouro e dois bebedouros alocados na parte externa, com comprimento igual ao do compartimento e 10 cm de largura.

Cada compartimento das baterias possuía uma bandeja para coleta de fezes visando as avaliações de metabolizabilidade, servindo também como separação física entre os andares de gaiolas. Ao início do experimento os pintos foram pesados em lotes de 10 animais e distribuídos nas unidades experimentais.

Durante o período de 01 a 14 dias de idade as aves foram submetidas a 24 horas de iluminação (natural + artificial), com o objetivo de aumentar o período de consumo, aquecimento e evitar acidentes. Dos 15 aos 36 dias de idade foi fornecida apenas a iluminação natural de aproximadamente 13 horas.

O consumo de ração foi registrado para cálculo da metabolizabilidade.

2.3 Dieta Basal e Rações Experimentais

No plano de alimentação foram utilizadas três rações de forma a atender as exigências nutricionais de cada intervalo de criação: pré-inicial (de 01 a 07 dias), inicial (08 a 21 dias) e crescimento (22 a 36 dias), formuladas de acordo com as recomendações de Rostagno *et al.* (2011).

Para a fabricação das rações experimentais foi realizada previamente uma mistura de ingredientes adicionados em menores quantidades (mistura mineral, mistura vitamínica, metionina, lisina, treonina, cloreto de colina, antioxidante, caulim, e fitogênico) com parte do milho moído, que foi posteriormente adicionada no misturador junto aos macroingredientes (milho, farelo de soja, fosfato bicálcico, calcário calcítico, sal comum e óleo de soja).

Os aditivos zootécnicos foram adicionados à ração em substituição ao inerte (caulim), sendo mantidos assim os mesmos níveis nutricionais em todas as rações.

O antimicrobiano utilizado no experimento foi a avilamicina e, segundo modelo experimental para pesquisa e desenvolvimento de aditivos alternativos para frangos de corte descrito por de Bellaver *et al.* (2002), é um antimicrobiano indicado na prevenção, eminência de surto e controle de enterites necróticas provocadas por *Clostridium perfringens* sensíveis a avilamicina.

Os tratamentos utilizados foram: CP - dieta referência + antimicrobiano (controle positivo); CN – dieta referência (controle negativo); PIP – dieta referência + piperina; CACICAP – dieta referência + cinamaldeído, capsaicina e carvacrol; CAP – dieta referência + capsaicina.

O aditivo fitogênico utilizado foi o XTractTM, que é uma mistura de ativos microencapsulados contendo carvacrol, cinamaldeído e capsaicina, contendo aproximadamente 5% de carvacrol, 3% de cinamaldeído e 2% de capsaicina, o XTract[®] CAPS XL, que é um ativo microencapsulado contendo capsaicina (aproximadamente 20%), ambos cedidos pela empresa PANCOSMA SA, e a piperina, que é o extrato de grãos secos de *Piper nigrum* L. , sob a forma de pó fino fabricada pela empresa AMBE PHYTOEXTRACTS e importada pela empresa Gamma Comércio Importação & Exportação Ltda. O XTractTM e o XTract[®] CAPS XL são microencapsulados de cor laranja, cheiro característico e sem evidências de impurezas. O XTractTM foi adicionado às dietas nas doses de 100 g/T na fase pré-inicial e 150 g/T nas fases inicial e de crescimento. O XTract[®] CAPS XL foi adicionado nas doses de 10 g/T na fase pré-inicial e 15 g/T nas fases inicial e de crescimento. A piperina foi adicionada na dose de 60 mg/kg para todas as fases de criação. O XTractTM e o XTract[®] CAPS XL foram adicionados à ração em quantidades recomendadas pelo fabricante, enquanto a piperina foi adicionada na dose de 60 mg/kg de acordo com trabalho de Cardoso *et al.* (2012).

Tabela 2. Composição percentual e calculada das dietas balanceadas

Ingredientes (%)	01 a 07 dias	08 a 21 dias	22 a 36 dias
Milho (7,25%)	48,526	55,984	56,862
Farelo de soja (44,20%)	43,906	37,790	35,356
Óleo de soja	3,367	2,667	3,905
Fosfato bicálcico	1,861	1,257	1,833
Calcário calcítico	0,912	0,969	0,856
Cloreto de sódio	0,507	0,481	0,457
DL-metionina	0,335	0,283	0,247
L-lisina HCl	0,150	0,156	0,106
L-treonina	0,060	0,045	0,014
Suplemento mineral ¹	0,100	0,100	0,100
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100	0,100
Cloreto de colina	0,062	0,055	0,050
Antioxidante ³	0,010	0,010	0,010
Caulim	0,100	0,100	0,100
Total %	100,000	100,000	100,000
Nutrientes	Composição calculada		
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	2950	3000	3100
Proteína bruta (%)	23,300	21,100	20,00
Cálcio (%)	0,920	0,819	0,732
Fósforo disponível (%)	0,470	0,296	0,525
Sódio	0,220	0,208	0,200
Lisina total (%)	1,444	1,294	1,189
Lisina digestível (%)	1,332	1,194	1,094
Metionina total (%)	0,668	0,591	0,542
Metionina digestível (%)	0,641	0,566	0,518
Metionina+Cistina total (%)	1,040	0,932	0,868
Metionina+Cistina digestível (%)	0,959	0,858	0,797
Treonina total (%)	0,982	0,880	0,809
Treonina digestível (%)	0,860	0,768	0,705
Triptofano total (%)	0,300	0,266	0,251
Triptofano digestível (%)	0,278	0,247	0,233
Ácido linoleico	3,136	2,846	3,578

¹ Ferro (min) 50 g/kg; cobre (min) 8.000 mg/kg; manganês (min) 70 g/kg; zinco (min) 70 g/kg; iodo (min) 800 mg/kg. ² Vitamina A (min) 7.000.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.000.000 UI/kg; vitamina E (min) 11.000 UI/kg; vitamina K3 (min) 1.500 mg/kg; tiamina (min) 1.800 mg/kg; riboflavina (min) 5.000 mg/kg; piridoxina (min) 2.400 mg/kg; vitamina B12 (min) 10.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; pantotato de cálcio (min) 11,5 g/kg; biotina (min) 40 mg/kg; ácido fólico (min) 800 mg/Kg; selênio (min) 300 mg/Kg. ³ Antioxidante BHT

2.4 Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). Cada compartimento das baterias metálicas contendo 10 aves foi considerado uma unidade experimental, sendo cinco tratamentos e seis repetições, totalizando 30 unidades experimentais e 300 aves.

2.5 Parâmetros Avaliados

2.5.1 Metabolizabilidade dos nutrientes

A metabolizabilidade dos nutrientes foi determinada na fase inicial (09 a 18 dias de idade das aves), utilizando-se o método de coleta total de excretas. O período experimental para determinação da metabolizabilidade dos nutrientes foi de dez dias, sendo o período de adaptação à dieta do nono ao décimo terceiro dia, e o de coleta total de excretas do décimo quarto ao décimo oitavo dia de idade.

As excretas foram coletadas em bandejas dispostas sob cada unidade experimental, revestidas com material plástico para evitar contaminação do material (figura 1). Foram realizadas duas coletas ao dia, às oito e dezessete horas, para evitar fermentações fecais. No término do período de coleta foi verificada a quantidade de ração consumida e o total das excretas por unidade experimental.

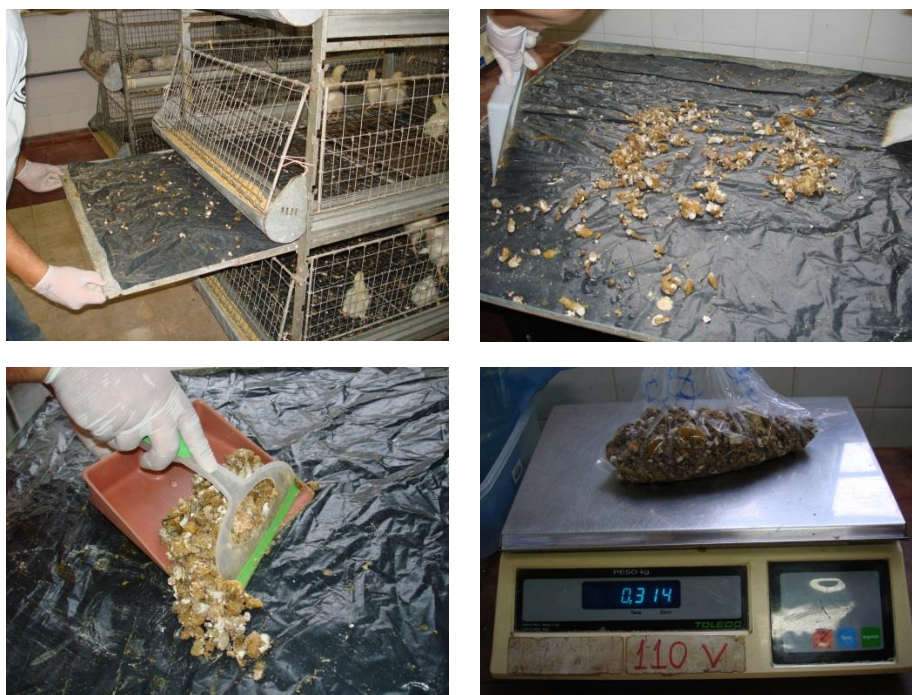


Figura 1. Registro fotográfico - coleta de fezes.

O material recolhido foi acondicionado em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em freezer (-10°C), até o período final de coleta. Foi armazenada também uma

amostra da ração para posteriores análises e comparações. Posteriormente, as excretas foram descongeladas, homogeneizadas, retirando-se uma alíquota de 400 g colocadas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 48 horas para pré-secagem. Após a pré-secagem, o material foi exposto por duas horas à temperatura ambiente, pesado e moído em peneira de 1 mm de malha, determinando-se em seguida a matéria seca, energia bruta e nitrogênio. As dietas experimentais foram também analisadas para matéria seca, energia bruta e nitrogênio, conforme técnicas descritas por AOAC (1990). Todas as análises foram realizadas no laboratório de análises bromatológicas do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens, do Instituto de Zootecnia, da UFRRJ.

A partir dos resultados das análises de laboratório, bem como os dados de consumo de ração e produção de excretas, foram calculados os coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (MS), do nitrogênio metabolizável (NM), e da energia bruta (EB), conforme a seguinte fórmula descrita por Schneider e Flat (1975):

$$\text{Metabolizabilidade Aparente (\%)} = \frac{\text{Nutriente ingerido (g)} - \text{Nutriente excretado (g)}}{\text{Nutriente ingerido (g)}} \times 100$$

Os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) serão calculados utilizando as equações propostas por Matterson et al. (1965), descritos abaixo:

$$\text{EMA (kcal/kg de MS)} = \frac{\text{EB Ingerida} - \text{EB Excretada}}{\text{MS Ingerida}}$$

$$\text{EMA}_n \text{ (kcal/kg de MS) do alimento} = \frac{(\text{EB Ingerida} - \text{EB Excretada}) \pm 8,22 \times (\text{BN})}{\text{MS Ingerida}}$$

2.5.2 Avaliação da integridade intestinal

Foi realizada coleta de 20 intestinos dos frangos aos 36 dias de idade, sendo 4 frangos de cada tratamento, para avaliação da integridade intestinal, de acordo com a altura de vilosidades (μm) e profundidade de cripta (μm) medidas segundo método descrito por Pelicano *et al.* (2005), onde amostras de cada segmento do intestino delgado foram coletadas, sendo 2,0 cm do duodeno, jejuno e íleo removidos dos seguintes locais: ápice do duodeno, 10 cm distal do ponto de entrada do ducto biliar e 10 cm próximo da junção cecal, respectivamente. Foram realizados 30 cortes transversais de cada segmento.

As amostras foram enviadas ao laboratório de Histologia do Instituto de Veterinária da UFRRJ em solução de Bouin e conservadas em formaldeído a 10% até efetivação do processo de clivagem. Para realização dos cortes e preparação das lâminas, os segmentos foram desidratados em série crescente de alcoóis, diafanizados em xilol e fixados em resina, onde passaram por corte de 0.4 micrômetros e colocados em lâminas para efetuar o processo de coloração com Hematoxilina e Eosina. Utilizando microscopia de luz com aumento de 2,5X, as imagens foram analisadas com o auxílio do programa Image Pro-Plus 4.0 (MEDIA CYBERNETICS, 1999).

2.5.3 Avaliação da enzima catalase

Após o abate dos frangos aos 36 dias de idade, os fígados foram coletados, pesados e enviados ao laboratório de Metabolismo Energético do Instituto de Ciências Exatas da UFRRJ, onde foram congelados à -80°C para obtenção do homogeneizado. Para o preparo dos extratos, foram rapidamente descongelados e homogeneizados em tampão de lise (Tris-HCl 10mM pH 7,0, sacarose 250 mM e EDTA 5mM) e centrifugados em seguida à 1000g por 10 minutos, 4°C. O sobrenadante obtido desta centrifugação (homogeneizado total) foi utilizado para determinação das atividades enzimáticas. As proteínas totais foram quantificadas de acordo com o método de Lowry *et al.* (1951) no homogeneizado total para determinação das atividades específicas da catalase.

A atividade enzimática foi medida dos homogeneizados totais. A atividade da enzima foi determinada de acordo com os métodos de Aebi (1984). A reação foi iniciada pela adição de 0,1 mg/ml de proteína em um meio de reação contendo tampão fosfato 50 mM pH 7,0 e H₂O₂ 15 mM, à 25°C. A taxa de diminuição na absorvância do H₂O₂ foi monitorada espectrofotometricamente (240 nm) por 1-2 minutos e transformada em unidades de atividade enzimática.

2.6 Análises Estatísticas

Os dados foram analisados no programa estatístico SISVAR (2003) e quando verificado efeito significativo pelo teste F foi utilizado o teste SNK para comparação das médias com significância de 5% ($p < 0,05$) e todos os tratamentos com fitogênicos em relação ao controle negativo e controle positivo, pelo teste de Dunnett. O modelo matemático utilizado foi:

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

Sendo:

Y_{ij} = Valor observado relativo ao tratamento i , na repetição j ;

μ = média geral do experimento;

T_i = efeito do tratamento i , i = controle positivo; controle negativo; 60mg/Kg de piperina; 100 mg/Kg de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol; 10 mg/Kg de capsaicina, sendo $i = 1, 2, 3, 4, 5$.

e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação, associado ao tratamento i na repetição j , sendo $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação da Metabolizabilidade

Quanto aos dados de coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), do nitrogênio (CMN), energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn), não foram observados efeitos significativos ($p>0,05$) (tabela 5).

Tabela 5. Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), do nitrogênio (CMN), energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) das dietas experimentais na fase inicial

Tratamentos	CMMS (%)	CMN (%)	EMA/Kg MS	EMAn/Kg MS
CP	70,81	51,44	2.845,28	2.683,23
CN	69,67	50,70	2.874,60	2.714,11
PIP	72,57	50,96	3.010,49	2.856,74
CACICAP	72,19	56,02	2.949,45	2.758,34
CAP	70,52	54,80	2.859,60	2.672,62
CV (%)	5,57	9,92	5,52	5,34

Médias não diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p>0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; PIP - dieta referência + 60mg/Kg de piperina; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina; CAP - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina

Em trabalhos realizados por Barreto *et al.* (2008) e Petrolli *et al.* (2012) incluindo avilamicina, orégano (carvacrol), canela (cinamaldeído), pimenta vermelha (capsaicina) e alho (alicina) na ração de frangos de corte, os autores avaliaram a digestibilidade de nutrientes e não encontraram efeito dos tratamentos sobre a energia metabolizável aparente.

As pesquisas feitas por Rizzo *et al.* (2010), utilizando ração referência, ração com avilamicina, ração com óleos essenciais de cravo, tomilho, canela, pimenta, ração com óleos essenciais de orégano (carvacrol), canela (cinamaldeído) e óleo-resina de pimenta (capsaicina) e ração com óleo de eucalipto, óleo essencial de canela-da-china, folhas de boldo-do-chile e sementes de feno grego não resultaram em diferenças ao avaliarem EMAn e digestibilidade da proteína bruta (PB).

Os autores (BARRETO *et al.*, 2008, RIZZO *et al.*, 2010, PETROLI *et al.*, 2012) remetem a ausência de resposta à alta digestibilidade dos ingredientes usados na dieta experimental e ao baixo desafio na criação. Utilizando ingredientes altamente digestíveis, a percepção do aumento da digestibilidade proporcionada pelos aditivos fitogênicos ficaria comprometida, fato que pôde ser observado neste estudo.

Fornecendo diferentes concentrações de mistura de óleo essencial de orégano, anis e laranja (80, 125 e 250 mg/Kg de ração), Mountzouris *et al.* (2011) observaram efeito significativo para energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio, onde os frangos que receberam 80 mg apresentaram maior energia em relação aos frangos do grupo controle negativo.

Segundo Brenes e Roura (2010), a variação nos resultados dos estudos quanto à eficiência dos óleos essenciais se deve a fatores como a composição da ração (ingredientes menos digestíveis), nível de ingestão da dieta, padrão de higiene, condições ambientais, como também fatores relacionados à planta.

Os frangos deste estudo foram distribuídos e criados nas gaiolas de metabolismo desde o primeiro dia de idade, o que pode ter diminuído o desafio sanitário em comparação a aves criadas em camas, tendo contato direto com dejetos. Embora não tenham sido verificados efeitos dos extratos sobre a metabolizabilidade dos nutrientes, há estudos que concluíram que a presença dos princípios ativos na dieta promove aumento na produção de pepsina e ácido clorídrico pelo organismo, contribuindo para redução do pH no estômago e intestino delgado, que reduz a proliferação de bactérias patogênicas e menor competição por nutrientes, associada a estimulação da secreção pancreática, o que melhora a digestibilidade de nutrientes (MELLOR, 2000).

Compostos ativos de plantas como a capsaicina e o cinamaldeído têm se mostrado eficientes em promover redução da viscosidade intestinal e tornar o processo digestivo mais eficiente (KAMEL, 2000; BRUGALI, 2003), demonstrando possuir propriedades que estimulam a digestão. Porém, segundo Beterchini (2006), os aditivos proporcionam melhores resultados em condições de criação que ofereçam desafio às aves.

3.2 Avaliação da Mucosa Intestinal

Os resultados para altura do vilo (μm) e profundidade da cripta (μm) se encontram na tabela 6.

Tabela 6. Altura da vilosidade, profundidade da cripta e relação altura:profundidade de cortes transversais do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte abatidos aos 36 dias de idade

Variáveis	Tratamentos					CV (%)
	CP	CN	PIP	CACICAP	CAP	
Altura da vilosidade (µm)						
Duodeno	738,21	717,83	677,04	742,04	742,69	19,15
Jejuno	783,58	811,18	827,00	822,67	778,30	10,48
Íleo	742,49*	682,63	762,45*	777,42*	673,49	29,78
Profundidade de cripta (µm)						
Duodeno	174,49	157,10	163,39	171,40	163,52	19,52
Jejuno	161,22	170,93	163,28	171,90	161,69	17,68
Íleo	130,22	131,80	134,95	128,63	127,82	16,03
Altura:profundidade						
Duodeno	3,98	4,04	4,20	4,41	4,66	28,26
Jejuno	4,58	4,82	5,18	4,53	4,93	21,90
Íleo	5,71	5,29	5,66	6,25	5,56	34,75

*Diferem do controle negativo (CN) pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; PIP - dieta referência + 60mg/Kg de piperina; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina; CAP - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina

Não foram encontradas diferenças significativas na profundidade de cripta e na relação altura:profundidade entre os grupos estudados, porém, observou-se diferença ($p < 0,05$) para a altura da vilosidade do íleo, que apresentou menores valores nos frangos dos grupos controle negativo e capsaicina. Awaad *et al.* (2014) utilizando um grupo alimentado com ração referência e outro com carvacrol, cinamaldeído e capsaicina, relataram maior altura de vilosidade nos frangos do grupo com fitogênicos.

A mistura de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina tem sido relatada por atenuar danos à mucosa (MUSTAFA *et al.*, 2006) e aumentar a síntese de muco (JAMROZ *et al.* 2006), que pode melhorar a saúde do intestino, o que pode ter influenciado na altura de vilosidade do íleo dos frangos deste experimento.

Resultados diferentes foram observados por Carrijo *et al.* (2005), que utilizaram diferentes quantidades de inclusão de alho em pó e não encontraram diferenças para a altura das vilosidades e profundidade da cripta de frangos de corte abatidos aos 42 dias de idade. Fukayama *et al.* (2005) utilizando extrato de orégano, também não observaram diferenças na morfometria intestinal em frangos abatidos aos 21 dias de idade.

O desenvolvimento da mucosa intestinal e sua manutenção ocorrem devido a diversos fatores como a perda das células por extrusão, que ocorre no ápice da vilosidade, e a renovação celular, que envolve a proliferação e diferenciação de células localizadas na cripta e ao longo dos vilos (PELICANO *et al.*, 2003). Segundo Macari *et al.* (2002) a capacidade absorptiva do intestino é proporcional ao número de vilosidades.

O aumento da população de microrganismos patogênicos pode levar a um espessamento da parede intestinal e à redução do tamanho das vilosidades, uma forma de defesa (FURLAN *et al.*, 2004). A redução da altura da vilosidade, segundo Buddle e Bolton (1992), está relacionada com a capacidade de absorção da mucosa, que pode levar à diminuição da absorção de nutrientes. Entretanto, a menor altura de vilosidade do íleo dos frangos de corte do controle negativo não influenciou, no presente estudo, nos resultados para metabolizabilidade de nutrientes.

3.3 Avaliação da Atividade da Catalase

A atividade da catalase do fígado de frangos abatidos aos 36 dias de idade não foi diferente estatisticamente ($p > 0,05$) entre os grupos estudados (tabela 7 e figura 2), portanto, não foi observada a possível ação antioxidante dos fitogênicos com base neste parâmetro.

Tabela 7. Efeito dos tratamentos na atividade da enzima catalase do fígado de frangos abatidos aos 36 dias de idade

Tratamentos	Atividade Catalase (U/mg proteína)
CP	70,81
CN	69,67
PIP	72,57
CACICAP	72,19
CAP	70,52
CV (%)	5,57

Médias não diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p > 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; PIP - dieta referência + 60mg/Kg de piperina; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol; CAP - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina

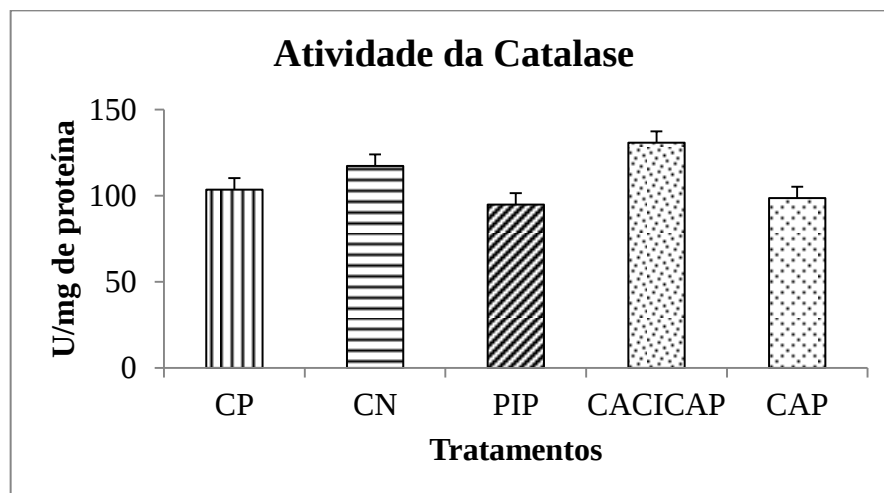


Figura 2. Efeito dos tratamentos na atividade da catalase. Médias não diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p>0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; PIP - dieta referência + 60mg/Kg de piperina; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol; CAP - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina

Os compostos utilizados no presente estudo, principalmente o cinamaldeído e o carvacrol, são citados na literatura como possuindo ação antioxidante (BOTSOGLOU *et al.*, 2002; FAIX *et al.*, 2009; HASHEMIPOUR *et al.*, 2013). Segundo Simsek *et al.* (2013), o óleo extraído da canela, rico em cinamaldeído, possui atividade antioxidante em órgãos como fígado, coração e rins, principalmente sob condições de estresse térmico, ativando enzimas antioxidantes das aves.

Em pesquisa realizada por Young *et al.* (2003) utilizando o orégano como aditivo à ração de frangos de corte, não foram verificadas diferenças para a atividade da catalase, resultado semelhante ao obtido neste estudo. Em ensaio realizado por Faix *et al.* (2009) utilizando óleo essencial de canela em níveis de 0,1, 0,05 e 0,025% e analisando seu efeito antioxidante no organismo de frangos de corte, não foram descritas diferenças significativas entre os tratamentos quando comparados também ao controle sem o aditivo, para a atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase, porém, concluíram que o uso do óleo resultou em uma significativa atividade antioxidante, pois observaram atividades maiores de outras enzimas antioxidantes (glutathione peroxidase) no grupo que recebeu 0,1% do óleo.

A análise da atividade da enzima catalase não foi suficiente para demonstrar a ação antioxidante dos fitogênicos estudados. É importante destacar que foi utilizado o antioxidante BHT na ração, o que pode ter comprometido a observação da ação dos fitogênicos sobre este parâmetro. De acordo com Barreiros e David (2006) a proteção ao organismo quanto ao estresse oxidativo depende de diversos componentes além das enzimas (superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase), como moléculas de origem endógena ou obtidas através da dieta, como carotenóides e flavonóides.

4 CONCLUSÕES

O uso de óleo essencial de carvacrol, cinamaldeído, capsaicina e piperina nas dietas para frangos de corte não alterou os índices de metabolizabilidade e da atividade da enzima antioxidante catalase.

Para os resultados de altura de vilosidade do íleo, a inclusão de piperina e do carvacrol, cinamaldeído e capsaicina resultaram em números equivalentes ao grupo de frangos que receberam a avilamicina.

Os fitogênicos estudados podem ser utilizados em rações de frangos de corte, em especial em rações sem a inclusão dos antimicrobianos melhoradores de desempenho.

CAPÍTULO II

CARVACROL CINAMALDEÍDO E CAPSAICINA: METABOLIZABILIDADE DE NUTRIENTES E ATIVIDADE ENZIMÁTICA PANCREÁTICA

RESUMO

BARROSO, Débora Costa. **Carvacrol, cinamaldeído e capsaicina: Metabolizabilidade de nutrientes e análise enzimática pancreática**. 2016. 12p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O experimento teve como objetivos avaliar a inclusão de fitogênicos na ração para frangos de corte na metabolizabilidade dos nutrientes da ração e a atividade enzimática pancreática de protease e amilase. Foram utilizados os tratamentos: CP: ração referência + antimicrobiano (avilamicina); CN: ração referência; CACICAP: ração referência +150 mg/Kg de ativos encapsulados de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina; CAPI: ração referência + 15 mg/Kg de ativo microencapsulado capsaicina e CAPII: ração referência + 30 mg/Kg de ativo microencapsulado capsaicina, sendo cinco tratamentos e cinco repetições por tratamento, 10 frangos por repetição, sendo 50 frangos por tratamento e totalizando 250 frangos de corte. As rações referência foram formuladas para atender as exigências nutricionais para cada fase de vida dos frangos (pré-inicial e inicial). O experimento foi realizado em gaiolas metabólicas, sendo cada gaiola uma unidade experimental com 10 frangos. As aves foram colocadas nas gaiolas ao 8º dia de idade e foram coletadas fezes para avaliação da metabolizabilidade de nutrientes. A coleta teve duração de cinco dias, do 16º ao 20º dia de idade, sendo realizadas duas vezes ao dia. As excretas foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para posterior análise da matéria seca, nitrogênio, energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio. Para a análise enzimática pancreática, foram coletados 4 pâncreas de cada tratamento, que foram pesados, congelados. No momento da análise, foram então descongelados e homogeneizados para a determinação das atividades enzimáticas proteásica e amilásica. Os dados foram analisados por programa estatístico e quando verificado efeito significativo foi utilizado o teste SNK para comparação das médias com significância de 5% ($p < 0,05$) e o teste Dunnett para comparação com o controle negativo. Para os resultados de metabolizabilidade, não foram encontrados efeitos significativos ($p > 0,05$). Para a análise proteásica, foi observado maior atividade nos pâncreas dos frangos pertencentes ao grupo que recebeu 15 mg/Kg de capsaicina quando comparado aos frangos do grupo que recebeu ração referência. Os resultados indicam ação positiva da capsaicina sobre as enzimas digestivas, mas não foram observadas alterações nos resultados para metabolizabilidade dos nutrientes, indicando que os fitogênicos podem ser utilizados em rações sem antimicrobianos.

Palavras-chave: Enzimas digestivas, Metabolizabilidade, Óleos essenciais.

ABSTRACT

BARROSO, Débora Costa. **Carvacrol, cinnamaldehyde and capsaicin: Metabolization of nutrients and pancreatic enzyme analysis**. 2016. 12p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

The experiment aimed to evaluate the inclusion of phytogetic in feed for broilers in the metabolization of the feed nutrients and pancreatic enzyme activity of protease and amylase. The treatments were: basal diet + antibiotic (avilamycin); basal diet; basal diet +150 mg / kg of microencapsulated active cinnamaldehyde, capsaicin and carvacrol; basal diet + 15 mg / kg of active microencapsulated capsaicin and basal diet + 30 mg / kg of active microencapsulated capsaicin, with five treatments and five replicates per treatment, 10 chickens per replication, and 50 chickens per treatment and a total of 250 broiler chickens. The reference diets were formulated to meet the nutritional requirements for each of chickens life stage (pre-initial and initial). The experiment was conducted in metabolic cages, each cage being an experimental unit with 10 chickens. The birds were placed in cages to 8 days old and feces were collected to evaluate the metabolization of nutrients. The collection lasted five days, from the 16th to the 20th day of age, being held twice a day. Excreta were packed in plastic bags and frozen for later analysis of dry matter, nitrogen, apparent metabolizable energy and apparent metabolizable energy corrected by the nitrogen balance. For pancreatic enzyme analysis, we were collected 4 pancreatic each treatment were weighed, frozen. At the time of analysis were then thawed and homogenized for the determination of amylase and protease enzymatic activity. Data were analyzed by statistical program and when found significant effect was the SNK test used to compare means with significance of 5% ($p < 0.05$) and Dunnett's test for comparison with the negative control. For the results of metabolization, were not found significant effects ($p > 0.05$). For protease analysis, it observed increased activity in the pancreas of chickens belonging to the group that received 15 mg / kg capsaicin compared to the basal diet group chickens. The results indicate positive action of capsaicin on digestive enzymes, but there were no changes observed in the results for metabolization of nutrients, indicating that the phytogetic can be used in feed without antibiotics.

Keywords: Digestive enzymes, Essencial oils, Metabolizability.

1 INTRODUÇÃO

Com a proibição do uso dos antimicrobianos como melhoradores de desempenho na dieta de frangos de corte pela União Européia e sua crescente restrição no Brasil, os fitogênicos representam uma alternativa para a utilização em rações sem aditivos melhoradores de desempenho. Porém, se torna necessário um maior conhecimento sobre o modo de ação e eficácia zootécnica destes compostos.

Os fitogênicos podem estimular a atividade enzimática intestinal das aves, a atividade das enzimas pancreáticas e promover o aumento da atividade antioxidante, levando à melhora na digestibilidade e na capacidade de absorção de nutrientes.

Um aumento da atividade de enzimas pancreáticas (amilase, lipase, tripsina e quimotripsina) com o fornecimento de timol e cinamaldeído na dieta para frangos de corte foi relatado por Lee *et al.* (2004). Jang *et al.* (2007) demonstraram aumento na atividade da tripsina e amilase em frangos de corte, quando foram utilizados óleos essenciais a base de timol. Hashemipour *et al.* (2013), ao adicionarem timol e carvacrol na dieta de frangos, relataram maior atividade da tripsina, amilase e lipase pancreática.

Em relação à digestibilidade de nutrientes, Bravo *et al.* (2011), avaliando o uso da mistura de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol na dieta de frangos de corte, relataram aumento da energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) e consequente melhora no desempenho em dietas com 2.950 Kcal EMAn/Kg. Dias *et al.* (2015) ao utilizarem óleo essencial de orégano (300, 600 e 900 mg/Kg), observaram maior coeficiente de metabolização do nitrogênio em frangos de corte na fase inicial.

Para investigar esses possíveis efeitos descritos, este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a metabolizabilidade de nutrientes e a atividade enzimática pancreática de frangos de corte alimentados com rações com capsaicina, cinamaldeído e carvacrol e a possível retirada do antimicrobiano da ração.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e Período Experimental

O experimento foi conduzido no laboratório de Ensaio de Digestibilidade do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens (DNAP) do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica-RJ, latitude 22° 45' S, longitude 43° 41' W, no período de 14 de outubro a 04 de novembro de 2015. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Pesquisa da UFRRJ, através do processo 23083.010805/2013-17, atendendo aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais e estando de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal.

As temperaturas máximas e mínimas foram anotadas diariamente com a utilização de termômetros de bulbo seco localizados em dois pontos distintos da sala e estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Temperatura máxima, mínima e média (°C) registradas durante o período experimental

Períodos (dias)	Temperaturas (°C)		
	Máxima	Mínima	Média
08 a 15	26,80	25,00	25,90
16 a 21	28,20	26,00	27,10
08 a 21	27,50	25,50	26,50

2.2 Animais, Instalações e Manejo

Foram utilizados 250 pintos de corte, machos da linhagem Cobb, de 08 a 21 dias de idade, vacinados contra Bouda Aviária e doença de Marek no incubatório. Os pintos foram alojados em círculo de proteção com campânula a gás do primeiro ao sétimo dia de idade, comedouros tipo bandeja e bebedouros tipo copo, maravalha nova como cama, recebendo ração formulada para atender as exigências nutricionais para a idade. Após essa idade, os pintos foram alojados em baterias metálicas de três andares, sendo cada andar subdividido em dois compartimentos (0,90 m x 0,85 m x 0,40 m), sendo que cada um possuía lâmpada incandescente de 60 watts para aquecimento dos pintos. Cada compartimento possuía 10 pintos, representando a unidade experimental, contendo comedouro tipo bandeja e bebedouros infantis tipo pressão até o 14° dia de idade das aves. Após essa idade, os comedouros e bebedouros foram substituídos pelo tipo calha, contendo em cada unidade experimental um comedouro e dois bebedouros alocados na parte externa, com comprimento igual ao do compartimento e 10 cm de largura.

Ao início do experimento os pintos foram pesados em lotes de 10 animais e distribuídos nas unidades experimentais, sendo alojadas 10 aves por unidade experimental.

Durante o período de 01 a 14 dias de idade as aves foram submetidas a 24 horas de iluminação (natural + artificial), com o objetivo de aumentar o consumo de ração, proporcionar aquecimento e evitar acidentes. Dos 15 aos 21 dias de idade foi fornecida apenas a iluminação natural de aproximadamente 13 horas.

Os animais foram pesados na sua chegada, ao primeiro dia de vida, pesando aproximadamente 44 gramas, ao 8º e 21º dias de idade (final do experimento).

2.3 Dieta Basal

A ração (Tabela 2) foi formulada para atender o requerimento nutricional para a idade inicial (08 a 21 dias), calculada de forma a atender as recomendações de exigências nutricionais de Rostagno *et al.* (2011).

Os aditivos zootécnicos foram adicionados à ração em substituição ao inerte (caulim), sendo mantido assim os mesmos níveis nutricionais em todas as rações.

O farelo de trigo foi incluído na ração para reduzir a sua digestibilidade em comparação a rações formuladas a base de milho e farelo de soja como ingredientes-base, na tentativa de evidenciar melhor os possíveis efeitos positivos dos fitogênicos nos coeficientes de metabolizabilidade de nutrientes da ração.

O antimicrobiano utilizado no experimento foi a avilamicina, segundo modelo experimental para pesquisa e desenvolvimento de ativos alternativos para frangos de corte descrito por de Bellaver *et al.* (2002), é um antimicrobiano indicado na prevenção, eminência de surto e controle de enterites necróticas provocadas por *Clostridium perfringens* sensíveis a avilamicina.

Tabela 2. Composição percentual e calculada das dietas balanceadas

Ingredientes (%)	09 a 21 dias
Milho (7,73%)	45,445
Farelo de soja (46,26%)	35,591
Farelo de trigo	10,000
Óleo de soja	5,251
Fosfato bicálcico	1,386
Calcário calcítico	1,008
Cloreto de sódio	0,483
DL-metionina	0,271
L-lisina HCl	0,154
L-treonina	0,039
Suplemento mineral ¹	0,100
Suplemento vitamínico ²	0,100
Cloreto de colina	0,055
Antioxidante BHT	0,015
Caulim	0,100
Total %	100,000
Nutrientes	
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3000
Proteína bruta (%)	22,000
Cálcio (%)	0,819
Fósforo disponível (%)	0,391
Sódio	0,210
Lisina total (%)	1,294
Lisina digestível (%)	1,182
Metionina total (%)	0,582
Metionina digestível (%)	0,553
Metionina+Cistina total (%)	0,932
Metionina+Cistina digestível (%)	0,850
Treonina total (%)	0,880
Treonina digestível (%)	0,765
Triptofano total (%)	0,279
Triptofano digestível (%)	0,248
Ácido linoleico	4,099

¹Ferro (min) 50 g/kg; cobre (min) 8.500 mg/kg; cobalto (min) 1.000 mg/kg; manganês (min) 70 g/kg; zinco (min) 60 g/kg; iodo (min) 1000 mg/kg. ²Vitamina A (min) 12.000.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.250.000 UI/kg; vitamina E (min) 25.000 UI/kg; vitamina K3 (min) 3.000 mg/kg; tiamina (min) 2.400 mg/kg; riboflavina (min) 12 g/kg; piridoxina (min) 2.000 mg/kg; vitamina B12 (min) 24.000 mcg/kg; niancina 42g/kg; panteonato de cálcio (min) 15 g/kg; biotina (min) 180 mg/kg; ácido fólico (min) 1.800 mg/Kg; selênio (min) 180 mg/Kg

2.4 Delineamento Experimental e Tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos e cinco repetições, totalizando 25 unidades experimentais e 250 aves. As rações e água foram fornecidas à vontade.

Os tratamentos foram: CP - dieta referência + avilamicina (controle positivo); CN - dieta referência (controle negativo); CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina.

O aditivo utilizado foi o XTractTM, que é uma mistura de ativos microencapsulados contendo carvacrol, cinamaldeído e capsaicina e o XTract[®] CAPS XL, que é um ativo microencapsulado contendo capsaicina, ambos cedidos pela empresa PANCOSMA SA. O XTractTM e o XTract[®] CAPS XL são microencapsulados de cor laranja, cheiro característico e sem evidências de impurezas. O XTractTM foi adicionado às dietas na dose de 150 g/t em todas as fases. O XTract[®] CAPS XL foi adicionado na dose de 15 g/t e na dose de 30 g/t em todas as fases.

2.5 Parâmetros Avaliados

Foram realizadas análises de enzimas pancreáticas. A coleta do pâncreas foi realizada ao 21º dia de idade dos frangos, sendo que quatro aves de cada tratamento foram pesadas e sacrificadas para a retirada do órgão, que foram pesados e congelados a aproximadamente -80°C.

A extração do zimogênio e a determinação da atividade das enzimas foram realizadas no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Artrópodes, no Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da UFRRJ (figura 1). O pâncreas foi descongelado e homogeneizado, utilizando-se tampão Tris-HCl 50 mM, pH 8,0 contendo NaCl 50 mM, à proporção de 1:20 (peso:volume), em banho de gelo. O extrato bruto foi centrifugado a 14.000g por 30 minutos sob refrigeração a 4 °C e filtrado em lã de vidro. Do material filtrado foram retiradas alíquotas, armazenadas a -20°C para determinações posteriores.

A ativação do zimogênio da tripsina foi efetuada em tampão Tris-HCl 50 mM contendo CaCl₂ 50 mM e pH 8,0. Em cada dosagem o extrato de pâncreas da amostra-teste foi incubado a 37 °C, durante 30 minutos, com igual volume de extrato duodenal (enteroquinase) (LIMA *et al.*, 2003).

Para a extração da enteroquinase conforme metodologia de Lima *et al.* (2003), a mucosa duodenal foi colhida com o auxílio de uma espátula de metal, homogeneizada em tampão Tris-HCl 50 mM, contendo CaCl₂ 50 mM, pH 8,0 na proporção 1:10 (peso:volume).

Após ativação do tripsinogênio, a atividade da tripsina foi determinada descontinuamente a 37°C, com a liberação da p-nitroanilida ($\epsilon = 9620 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, 410 nm), em um espectrofotômetro HITACHI, de acordo com Kakade *et al.* (1974). Em cada experimento foram incluídos controles sem adição de enzima, para se estimar a hidrólise espontânea do substrato. A reação foi iniciada pela adição do substrato N-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (SIGMA[®]) ao meio de incubação. As determinações foram feitas em triplicatas, durante 30 minutos. Uma unidade de atividade enzimática (U.mg⁻¹) foi definida e expressa como a

quantidade de enzima que libera 1 nmol de p-nitroanilida por minuto por miligrama de proteína nas condições padrões do teste.

A atividade de α -amilase pancreática foi determinada descontinuamente a 37°C, de acordo com o procedimento descrito por Bernfeld (1955) e os resultados foram comparados a curva padrão (maltose). As condições padrões dos ensaios foram tampão fosfato 20 mM, pH 6,9, contendo NaCl 7mM e amido solúvel 1%, em um volume final de 1mL. Após 5 minutos, a reação foi interrompida pela adição de 0,5 mL do reagente do ácido 3,5-dinitrosalicílico. Após homogeneização, as amostras foram colocadas em banho-maria e permaneceram em ebulição, por 10 minutos, sendo posteriormente resfriadas e diluídas com 10 mL de água destilada. Após agitação, a absorbância foi determinada a 550 nm. Em cada determinação, foram incluídos controles sem a adição da enzima para se estimar a hidrólise não enzimática do substrato. Uma unidade de atividade enzimática da amilase pancreática foi definida e expressa como a quantidade de enzima que libera 1 mol de maltose/minuto nas condições padrão do teste.

A dosagem de proteína foi efetuada de acordo com o método descrito por Hartree (1972).

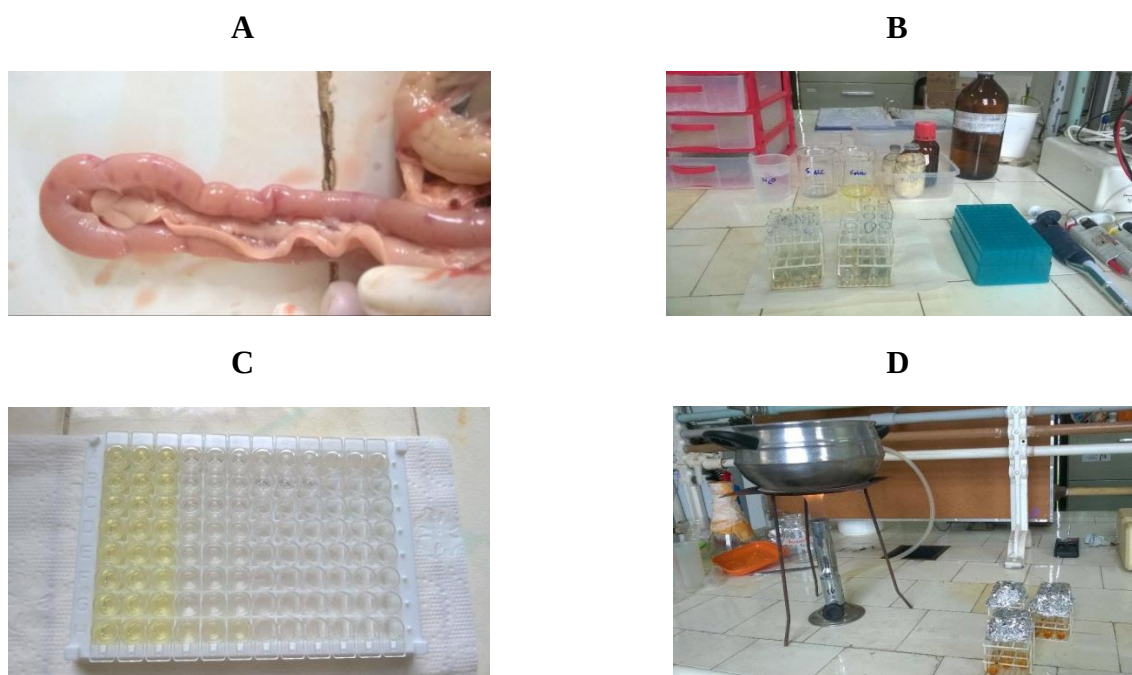


Figura 1. Registro fotográfico. A – Pâncreas de frangos aos 21 dias. B – Dosagem de proteína. C – Avaliação da atividade proteásica. D – Avaliação da atividade amilásica

Na avaliação da metabolizabilidade dos nutrientes, foi utilizado o método de coleta total de excretas. Esta foi determinada na fase inicial (11 a 20 dias de idade das aves).

O período experimental para determinação da metabolizabilidade dos nutrientes foi de dez dias, sendo o período de adaptação à dieta do décimo primeiro ao décimo quinto dia, e o de coleta total de excretas do décimo sexto ao vigésimo dia de idade.

As excretas foram coletadas em bandejas posicionadas sob cada unidade experimental, forradas com material plástico para evitar contaminação do material. Foram realizadas duas coletas ao dia, às oito e dezessete horas, para evitar fermentações fecais. Ao final do período de coleta foi mensurada a quantidade de ração consumida e o total das excretas por unidade experimental.

O material recolhido foi colocado em sacos plásticos, sendo em seguida identificados e armazenado em freezer (-10°C), até o período final de coleta. Amostras das rações utilizadas também foram armazenadas para análises. Posteriormente, as excretas foram descongeladas e homogeneizadas, retirando-se uma alíquota de 400 g colocadas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 48 horas para pré-secagem. Após a pré-secagem, o material foi exposto por duas horas à temperatura ambiente, e depois pesado e moído em peneira com 1 mm de malha, determinando-se em seguida a matéria seca, energia bruta e nitrogênio. As dietas experimentais foram também analisadas para matéria seca, energia bruta e nitrogênio, conforme técnicas descritas por AOAC (1990). Todas as análises foram realizadas no laboratório de análises bromatológicas do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens, do Instituto de Zootecnia, da UFRRJ.

A partir dos resultados das análises de laboratório, bem como os dados de consumo de ração e produção de excretas, foram calculados os coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (MS), do nitrogênio metabolizável (NM), e da energia bruta (EB), conforme a seguinte fórmula descrita por Schneider e Flat (1975):

$$\text{Metabolizabilidade Aparente (\%)} = \frac{\text{Nutriente ingerido (g)} - \text{Nutriente excretado (g)}}{\text{Nutriente ingerido (g)}} \times 100$$

Os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) foram calculados utilizando as equações propostas por Matterson *et al.* (1965), descritos abaixo:

$$\text{EMA (kcal/kg de MS)} = \frac{\text{EB Ingerida} - \text{EB Excretada}}{\text{MS Ingerida}}$$

$$\text{EMA}_n \text{ (kcal/kg de MS) do alimento} = \frac{(\text{EB Ingerida} - \text{EB Excretada}) \pm 8,22 \times (\text{BN})}{\text{MS Ingerida}}$$

2.6 Análises Estatísticas

Foi utilizado o programa estatístico SISVAR (2003) para análise dos dados, e quando verificado efeito significativo pelo teste F, o teste SNK foi utilizado para comparação das médias com significância de 5% ($p < 0,05$) e o teste de Dunnett para comparação de todos os tratamentos com fitogênicos em relação ao controle negativo e controle positivo. O modelo matemático utilizado foi:

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

Sendo:

Y_{ij} = Valor observado relativo ao tratamento i , na repetição j ;

μ = média geral do experimento;

T_i = efeito do tratamento i , i = controle positivo; controle negativo; 150 mg/Kg de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol; 15 mg/Kg de capsaicina; 30 mg/Kg de capsaicina, sendo $i = 1, 2, 3, 4, 5$.

e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação, associado ao tratamento i na repetição j , sendo $j = 1, 2, 3, 4, 5$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Metabolizabilidade de Nutrientes

Não foram verificadas diferenças estatísticas no coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), coeficiente de metabolizabilidade do nitrogênio (CMN), energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) (tabela 3).

Tabela 3. Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), do nitrogênio (CMN), energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) das dietas experimentais na fase inicial

Tratamentos	CMMS (%)	CMN (%)	EMA/Kg MS	EMAn/Kg MS
CP	72,84	66,55	2.967,16	2.750,93
CN	73,60	67,75	3.007,58	2.785,06
CACICAP	74,11	69,25	3.065,52	2.832,32
CAPI	73,81	68,45	3.047,86	2.820,05
CAPII	72,89	69,69	3.036,86	2.800,97
CV (%)	2,18	3,65	2,08	2,00

Médias não diferem estatisticamente pelo teste SNK e Dunnett ($p>0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

Os resultados encontrados são semelhantes aos observados por Lee *et al.* (2003), que não obtiveram diferenças significativas para digestibilidade ileal de proteína em dietas com inclusão de diferentes óleos essenciais (timol, eugenol, piperina e cinamaldeído). Os autores destacam que os efeitos positivos dos aditivos fitogênicos são mais expressivos quando os frangos testados se encontram em condições de menor higiene ou ao utilizar dietas menos digestíveis. De forma semelhante, Hernández *et al.* (2004) utilizando óleos essenciais de orégano, manjerição, alecrim e tomilho para frangos de corte, não observaram diferenças para energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio. Dias *et al.* (2015), ao incluírem diferentes concentrações de óleo essencial de orégano na dieta de frangos (300, 600 e 900 mg/Kg), também não relataram diferenças para EMA e EMAn entre os tratamentos.

Já em estudo desenvolvido por Bravo *et al.* (2011), foi constatado aumento da energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) em frangos de corte na fase inicial suplementados com a mistura de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol.

3.2 Determinação da Atividade Proteásica e Amilásica do Pâncreas

A tabela 4 e as figuras 1 e 2 relatam a atividade enzimática pancreática da tripsina e da amilase de frangos de corte abatidos aos 21 dias de idade.

Tabela 4. Atividade Enzimática proteásica e amilásica do pâncreas de frangos de corte abatidos aos 21 dias de idade

Tratamentos	Atividade proteásica (U/mg proteína)	Atividade amilásica (U/mg proteína)
CP	0,9053 ^{ab}	0,1161
CN	0,7627 ^b	0,1026
CACICAP	1,0972 ^{ab}	0,1276
CAPI	1,3844 ^a	0,1091
CAPII	1,0087 ^{ab}	0,0628
CV (%)	27,87	38,39

^{a, b} Médias na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p < 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

Foram encontradas diferenças significativas para a atividade proteásica ($p < 0,05$), onde os frangos do grupo alimentado com 15 mg/Kg de capsaicina apresentaram maiores atividades quando comparados aos frangos pertencentes ao grupo controle negativo. Brugali (2003) afirmou que a pimenta possui o princípio ativo capsaicina, que se destaca por estimular a secreção de enzimas pancreáticas, podendo promover a redução da viscosidade intestinal e melhorar os processos digestivos. A atividade amilásica não apresentou diferenças entre os tratamentos estudados.

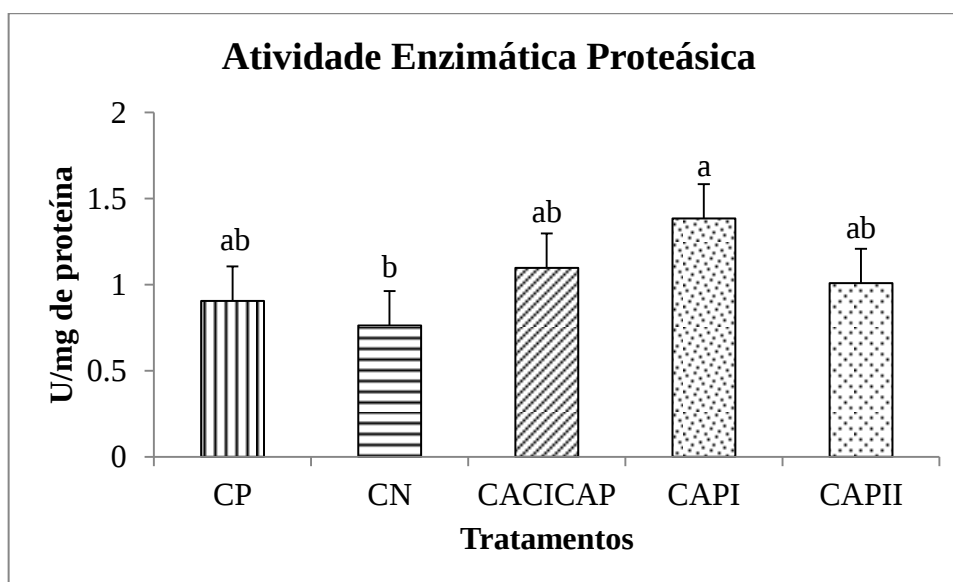


Figura 1. ^{a, b} Médias com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p < 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina. U/mg de proteína: atividade específica

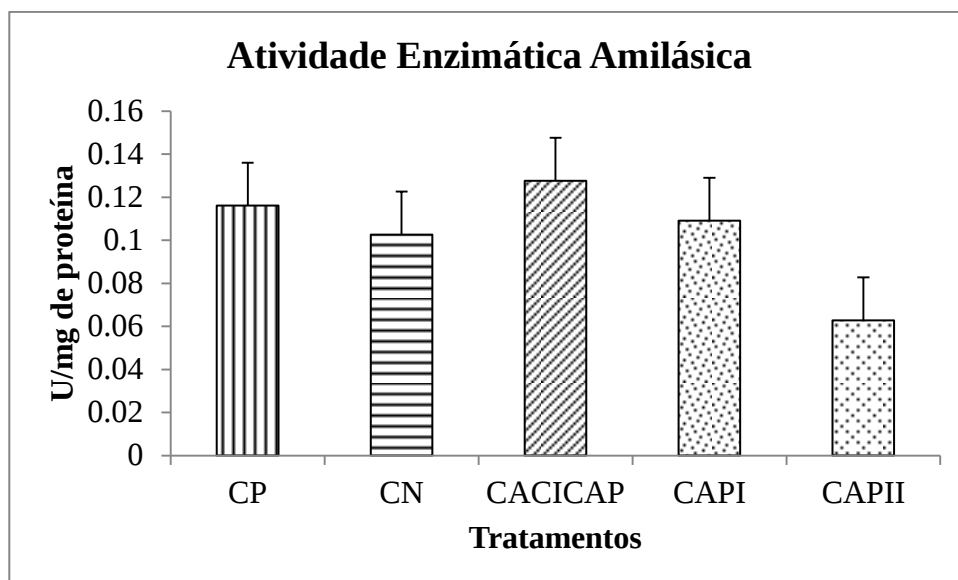


Figura 2. Médias não diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p > 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina. U/mg de proteína: atividade específica

Uma importante propriedade que tem sido observada quanto ao uso de determinadas plantas aromáticas ou temperos é sua influência na atividade enzimática, com consequente melhoria da digestibilidade de nutrientes (SCHEUERMAN e CUNHA JUNIOR, 2009). Princípios ativos, como a capsaicina presente na pimenta, têm se apresentado eficientes no estímulo a enzimas pancreáticas e intestinais em monogástricos. Consequentemente, promovem a redução da viscosidade intestinal, melhorando o processo digestivo (BRUGALI, 2003). De acordo com Platel e Srinivasan (1996), a capsaicina estimula a ação de proteases, principalmente a tripsina e a quimotripsina. Além da capsaicina, outros princípios ativos, como o cinamaldeído da canela, também possuem propriedades estimulantes digestivas (KAMEL, 2000).

Jang *et al.* (2007), relataram um aumento na atividade da tripsina e amilase em frangos de corte, com o uso de óleos essenciais. Hashemipour *et al.* (2013) utilizando níveis de uma mistura de timol e carvacrol em frangos de corte, observaram aumento linear das atividades da tripsina, amilase e lipase pancreática dos frangos que receberam o aditivo, quando comparados ao controle, aos 24 dias de idade, mas não observaram diferenças aos 42 dias, e concluíram que a suplementação do fitogênico provocaria a secreção das enzimas digestivas sob determinadas circunstâncias, por exemplo, idade das aves, dose do fitogênico, espécie das aves, tipo e qualidade da ração, saúde das aves e condições ambientais.

Os frangos deste estudo receberam uma dieta à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo, ingrediente que apresenta menor digestibilidade, o que pode o que pode estar relacionado ao aumento da atividade proteásica no grupo tratado com capsaicina (15 mg/Kg). A utilização de ingredientes menos digestíveis pode levar a melhor percepção da ação dos fitogênicos sobre a digestibilidade dos nutrientes (LEE *et al.*, 2003). O aumento da atividade proteásica pode ser explicado pelo estímulo à secreção de enzimas que alguns fitogênicos, como a capsaicina, podem exercer (Platel e Srinivasan, 1996).

4 CONCLUSÕES

Em rações com carvacrol, cinamaldeído e capsaicina, os resultados para metabolizabilidade de nutrientes e para a análise enzimática da amilase foram semelhantes aos encontrados com o uso de avilamicina, demonstrando que os fitogênicos podem ser utilizados, sem afetar a metabolizabilidade de nutrientes e a atividade amilásica.

A utilização de 15 mg/kg de capsaicina resultou em maior atividade enzimática proteásica no pâncreas dos frangos em comparação aos que receberam ração sem fitogênicos e equivalente a observada no grupo que recebeu o antimicrobiano avilamicina, indicando que a inclusão de capsaicina nesta dosagem influenciou positivamente a atividade enzimática proteásica.

CAPÍTULO III

CARVACROL CINAMALDEÍDO E CAPSAICINA: ÍNDICES PRODUTIVOS E METABOLIZABILIDADE DE NUTRIENTES

RESUMO

BARROSO, Débora Costa. **Carvacrol, cinamaldeído e capsaicina: Índices produtivos e metabolizabilidade de nutrientes**. 2016. 13p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Os fitogênicos têm se apresentado como uma alternativa interessante para a manutenção da saúde animal e dos índices produtivos de frangos alimentados com rações sem aditivos melhoradores de desempenho. O objetivo deste experimento foi analisar a metabolizabilidade dos nutrientes da ração para frangos de corte, seu desempenho, características de carcaça e peso de órgãos. Foram utilizados os seguintes tratamentos: ração referência + antimicrobiano (avilamicina); ração referência; ração referência + 150 mg/Kg de ativos encapsulados de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol; ração referência + 15 mg/Kg de ativo microencapsulado capsaicina e ração referência + 30 mg/Kg de ativo microencapsulado capsaicina, sendo cinco tratamentos e seis repetições por tratamento, 10 frangos por unidade experimental, totalizando 300 frangos de corte. As rações referência foram formuladas para atender as exigências nutricionais para cada fase de vida dos frangos (pré-inicial, inicial e crescimento). O experimento foi realizado em gaiolas metabólicas, sendo cada gaiola uma repetição com 10 frangos. As aves foram alojadas ao 9º dia de idade e foi realizada coleta de fezes para avaliação da metabolizabilidade de nutrientes durante cinco dias, do 16º ao 20º dia de idade, sendo realizadas duas vezes ao dia. As excretas foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para posterior análise da matéria seca, nitrogênio, energia metabolizável aparente e energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio. Os animais foram pesados aos 9º, 21º, 35º e 36º dias de idade (final do experimento), e o consumo de ração foi registrado nos mesmos dias das pesagens, com exceção ao 9º e 36º dia (início e final do consumo), para cálculo da conversão alimentar. Para avaliação de carcaça, foram abatidas doze aves por tratamento ao 36º dia de idade. Para determinação do rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça quente, limpa e eviscerada, em relação ao peso vivo após o jejum. Os dados foram analisados sendo utilizado o teste SNK para comparação das médias com significância de 5% ($p < 0,05$) e o teste Dunnett para comparação com o controle negativo. Para os resultados de metabolizabilidade, foram encontrados efeitos significativos ($p < 0,05$) para energia metabolizável aparente (EMA) e para a energia metabolizável aparente corrigido pelo balanço de nitrogênio (EMAn), sendo verificados os maiores valores nos grupos controle positivo (CP) e que receberam capsaicina (CAPI e CAPII). Para os parâmetros de carcaça, o peso vivo pós-jejum dos frangos que receberam os fitogênicos não diferiu ($p < 0,05$) daquele apresentado por frangos que receberam avilamicina na ração. O uso dos fitogênicos testados influenciou benéficamente em algumas características estudadas, justificando seu uso na dieta de frangos de corte.

Palavras-chave: Carcaça, Desempenho, Fitogênicos.

ABSTRACT

BARROSO, Débora Costa. **Carvacrol, cinnamaldehyde, capsaicin: Production rates and metabolism of nutrients**. 2016. 13p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

The phytogenic have been presented as an interesting alternative to the maintenance of animal health and production indices of chickens fed diets without performance enhancing additives. The purpose of this study was to analyze the metabolism of the feed nutrients to broiler performance, carcass characteristics and organ weights. The following treatments were used: basal diet + antibiotic (avilamycin); reference diet; basal diet + 150 mg / kg of encapsulated active cinnamaldehyde, capsaicin and carvacrol; basal diet + 15 mg / kg of active microencapsulated capsaicin and basal diet + 30 mg / kg of active microencapsulated capsaicin, with five treatments and six replicates per treatment, 10 chickens per replication, and 60 chickens per treatment and a total of 300 broiler chickens. The reference diets were formulated to meet the nutritional requirements for each of chickens life stage (pre-initial, initial and growing). The experiment was conducted in metabolic cages, each cage a repeat with 10 chickens. The birds were housed at 9 days old and has been held collection of feces to evaluate the metabolism of nutrients for five days, from the 16th to the 20th day of age, being held twice a day. Excreta were placed in plastic bags and frozen for later analysis of dry matter, nitrogen, apparent metabolizable energy and apparent metabolizable energy corrected by the nitrogen balance. The animals were weighed at 9 °, 21 °, 35 ° and 36 days of age (end of the experiment), and feed intake was recorded on the same days of weighing, except the 9th and 36th day (start and end consumption), to calculate feed conversion. For carcass evaluation, twelve birds were slaughtered per treatment to 36 days old. To determine carcass yield, it was considered the hot carcass weight, cleaned and gutted, relative to body weight after fasting. Data were analyzed with the SNK test used to compare means with significance level of 5% ($p < 0.05$) and Dunnett's test for comparison with the negative control. For the results of metabolism, significant effects were found ($p < 0.05$) for apparent metabolizable energy (AME) and apparent metabolizable energy corrected for nitrogen balance (AME), the highest values being observed in the positive control group (CP) who received capsaicin (CAPI and CAPII). For the carcass parameters, the post-fasting live weight of chickens which received the phytogenic did not differ ($p < 0.05$) from that presented by chickens that received avilamycin in the feed. The use of the tested phytogenic beneficially influenced in some traits, justifying its use in the diet of broilers.

Keywords: Carcass yield, Performance, Phytogenic.

1 INTRODUÇÃO

Os fitogênicos têm se apresentado como uma alternativa interessante para a manutenção da saúde animal e dos índices produtivos de frangos alimentados com rações sem aditivos melhoradores de desempenho. Dentre as possíveis ações destes aditivos zootécnicos equilibradores da microbiota intestinal são a melhoria na digestibilidade de nutrientes da ração balanceada e ação benéfica na atividade de enzimas digestivas.

Em relação ao desempenho dos animais, Ertas *et al.* (2005) e Silva *et al.* (2009) utilizando óleo essencial de orégano, relataram efeito positivo sobre o desempenho de aves suplementadas com este fitogênico. Estudos realizados por Petrolli *et al.* (2012) utilizando cinamaldeído, capsaicina e carvacrol, constataram que estes proporcionaram desempenho dos frangos semelhante aos que consumiram antimicrobiano como melhorador de desempenho. Já Toledo *et al.* (2007), Rizzo *et al.* (2010) e Bravo *et al.* (2011), não constataram diferenças no desempenho ao utilizarem extratos vegetais como aditivos. O uso de extratos vegetais também pode ter ação positiva nas características de carcaça (SIMSEK *et al.* 2007, AL-KASSIE, 2009, EL-GOUSHEIN *et al.* 2009, KOIYAMA *et al.* 2014).

Efeitos benéficos têm sido descritos na literatura em relação à digestibilidade dos nutrientes da ração. Dias *et al.* (2015) utilizando óleo essencial de orégano, observaram maior coeficiente de metabolização aparente do nitrogênio. Em experimento conduzido por García *et al.* (2007), com a inclusão de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol na dieta, observaram melhor digestibilidade ileal aparente para matéria seca e proteína, quando comparados aos frangos que receberam dieta referência. Mountzouris *et al.* (2011) utilizando orégano (carvacrol), anis e laranja, relataram melhora na EMAn, com maiores valores do que de frangos suplementados com avilamicina como melhorador de desempenho.

Para investigar esses possíveis efeitos descritos, o presente estudo foi conduzido com os objetivos de avaliar o desempenho, características de carcaça de frangos de corte e a metabolizabilidade de nutrientes de rações com capsaicina, cinamaldeído e carvacrol e com o antimicrobiano avilamicina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e Período Experimental

O experimento foi realizado no laboratório de Ensaio de Digestibilidade do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens (DNAP) do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica-RJ, latitude 22° 45' S, longitude 43° 41' W, de 19 de maio a 24 de junho de 2015. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética na Pesquisa da UFRRJ, através do processo 23083.010805/2013-17, atendendo aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais e estando de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal.

As temperaturas máximas e mínimas foram anotadas diariamente com a utilização de termômetros de bulbo seco localizados em dois pontos distintos da sala e estão apresentadas na tabela a seguir.

Tabela 1. Temperatura máxima, mínima e média (°C) registradas durante o primeiro período experimental

Períodos (dias)	Temperaturas (°C)		
	Máxima	Mínima	Média
09 a 15	26,28	23,14	24,71
16 a 22	28,57	23,71	26,14
23 a 29	28,00	24,28	26,14
30 a 35	26,83	21,83	24,33
09 a 35	27,42	23,24	25,33

2.2 Animais, Instalações e Manejo

Foram utilizados 300 pintos de corte, machos da linhagem Cobb, de 09 a 36 dias de idade, vacinados contra Bouda Aviária e doença de Marek no incubatório. O peso dos pintinhos ao chegarem foi de aproximadamente 42 gramas. Os pintos foram alojados em círculo de proteção com campânula a gás do primeiro ao nono dia de idade, comedouros tipo bandeja e bebedouros tipo copo, onde receberam ração formulada para atender os requerimentos nutricionais para a idade. Após essa idade, os pintos foram alojados em baterias metálicas de três andares, sendo cada andar subdividido em dois compartimentos (0,90 m x 0,85 m x 0,40 m), cada compartimento contendo lâmpada incandescente de 60 watts para aquecimento dos pintos. Cada compartimento foi composto por 10 pintos, que foi considerado como unidade experimental, contendo comedouro tipo bandeja e bebedouros infantis tipo pressão até o 14° dia de idade das aves. Após essa idade, os comedouros e bebedouros foram substituídos pelo tipo calha, contendo em cada unidade experimental um comedouro e dois bebedouros alocados na parte externa, com comprimento igual ao do compartimento e 10 cm de largura.

Em cada unidade experimental foi colocada uma bandeja para coleta de fezes visando as avaliações de metabolizabilidade. Ao início do experimento os pintos foram pesados em lotes de 10 animais e distribuídos nas unidades experimentais, sendo alojadas 10 aves por unidade experimental.

Durante o período de 01 a 14 dias de idade as aves foram submetidas a 24 horas de iluminação (natural + artificial), com o objetivo de aumentar o período de consumo, aquecimento e evitar acidentes. Dos 15 aos 36 dias de idade foi fornecida apenas a iluminação natural de aproximadamente 13 horas.

Os animais foram pesados na sua chegada, ao primeiro dia de vida, aos 9º, 21º, 35º e 36 dias de idade (final do experimento), e o consumo de ração foi registrado nos mesmos dias das pesagens, com exceção ao 9º e 36º dia, para cálculo da conversão alimentar.

2.3 Dieta Basal

As rações foram formuladas para atender as exigências nutricionais de cada intervalo de criação: inicial (09 a 21 dias) e crescimento (22 a 36 dias), calculadas segundo as recomendações de exigências nutricionais de Rostagno *et al.* (2011).

Os aditivos zootécnicos foram adicionados à ração em substituição ao inerte (caulim), sendo mantidos assim os mesmos níveis nutricionais em todas as rações. Água e rações foram fornecidas à vontade.

O antimicrobiano utilizado no experimento foi a avilamicina, conforme modelo experimental para pesquisa e desenvolvimento de ativos alternativos para frangos de corte descrito por de Bellaver *et al.* (2002), sendo um antimicrobiano indicado na prevenção, eminência de surto e controle de enterites necróticas provocadas por *Clostridium perfringens* sensíveis a avilamicina.

A seguir, é apresentada a composição das dietas balanceadas (tabela 2).

Tabela 2. Composição percentual e calculada das dietas balanceadas

Ingredientes (%)	09 a 21 dias	22 a 36 dias
Milho (7,73%)	55,130	60,230
Farelo de soja (46,26%)	38,255	32,948
Óleo de soja	2,906	3,431
Fosfato bicálcico	1,480	1,261
Calcário calcítico	0,967	0,864
Cloreto de sódio	0,482	0,457
DL-metionina	0,263	0,250
L-lisina HCl	0,128	0,168
L-treonina	0,023	0,030
Suplemento mineral ¹	0,100	0,100
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100
Cloreto de colina	0,055	0,050
Antioxidante BHT	0,010	0,010
Caulim	0,100	0,100
Total %	100,000	100,000
Nutrientes	Composição calculada	
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3000	3100
Proteína bruta (%)	22,000	20,024
Cálcio (%)	0,819	0,732
Fósforo disponível (%)	0,391	0,342
Sódio	0,210	0,200
Lisina total (%)	1,294	1,189
Lisina digestível (%)	1,187	1,092
Metionina total (%)	0,578	0,541
Metionina digestível (%)	0,553	0,519
Metionina+Cistina total (%)	0,932	0,868
Metionina+Cistina digestível (%)	0,852	0,794
Treonina total (%)	0,880	0,809
Treonina digestível (%)	0,770	0,707
Triptofano total (%)	0,274	0,243
Triptofano digestível (%)	0,249	0,226
Ácido linoleico	2,921	2,114

¹Ferro (min) 50 g/kg; cobre (min) 8.500 mg/kg; cobalto (min) 1.000 mg/kg; manganês (min) 70 g/kg; zinco (min) 60 g/kg; iodo (min) 1000 mg/kg. ²Vitamina A (min) 12.000.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.250.000 UI/kg; vitamina E (min) 25.000 UI/kg; vitamina K3 (min) 3.000 mg/kg; tiamina (min) 2.400 mg/kg; riboflavina (min) 12 g/kg; piridoxina (min) 2.000 mg/kg; vitamina B12 (min) 24.000 mcg/kg; niacina 42g/kg; panteonato de cálcio (min) 15 g/kg; biotina (min) 180 mg/kg; ácido fólico (min) 1.800 mg/Kg; selênio (min) 180 mg/Kg.

2.4 Delineamento Experimental e Tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). Cada compartimento de cada andar das baterias metálicas contendo 10 aves foi considerado uma unidade experimental, sendo cinco tratamentos e seis repetições, totalizando 30 unidades experimentais e 300 aves.

Os tratamentos foram: CP - dieta referência + antimicrobiano (controle positivo); CN - dieta referência (controle negativo); CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina.

O aditivo utilizado foi o XTractTM, que é uma mistura de ativos microencapsulados contendo carvacrol, cinamaldeído e capsaicina e o XTract[®] CAPS XL, que é um ativo microencapsulado contendo capsaicina, ambos cedidos pela empresa PANCOSMA SA. O XTractTM e o XTract[®] CAPS XL são microencapsulados de cor laranja, cheiro característico e sem evidências de impurezas. O XTractTM foi adicionado às dietas na dose de 150 g/T em todas as fases. O XTract[®] CAPS XL foi adicionado na dose de 15 g/T e na dose de 30 g/T em todas as fases.

2.5 Parâmetros Avaliados

Para dados de desempenho, foram mensurados o consumo de ração, o ganho de peso, a conversão alimentar e a viabilidade. O consumo foi calculado com a ração fornecida e a sobra de ração contida nos comedouros ao final de cada período experimental, dividindo-se posteriormente pelo número de aves por compartimento (figura 1). Na ocorrência de morte, a ração do comedouro foi pesada para o cálculo do consumo de ração corrigida. O ganho de peso foi determinado pela diferença entre o peso final e inicial de cada período. A conversão alimentar foi obtida pela relação entre o consumo de ração e o ganho de peso em cada período.



Figura 1. Registro fotográfico. A – Rações experimentais. B – Gaiolas e caixas para pesagem.

Também foram avaliadas características de carcaça e metabolizabilidade dos nutrientes.

Para avaliação de carcaça, foram abatidas doze aves por tratamento. As aves foram submetidas a um jejum de 8 horas antes do abate, quando os animais foram pesados e, em seguida, abatidos. No abate, os frangos foram atordoados por deslocamento cervical,

sangrados, escaldados a aproximadamente 54 °C por dois minutos, depenados em máquina depenadeira e eviscerados manualmente, retirando-se também cabeça, pescoço e pés. As carcaças foram pesadas após gotejamento para avaliação do peso da carcaça quente, e logo em seguida foram realizados os cortes (asa, peito, coxa + sobrecoxa e dorso) e pesagem dos mesmos. Para determinação do rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça quente, limpa e eviscerada, em relação ao peso vivo após o jejum.

Na avaliação da metabolizabilidade dos nutrientes, foi utilizado o método total de excretas. Esta foi determinada na fase inicial (11 a 20 dias de idade das aves).

O período experimental para determinação da metabolizabilidade dos nutrientes foi de dez dias, sendo o período de adaptação à dieta do décimo primeiro ao décimo quinto dia, e o de coleta total de excretas do décimo sexto ao vigésimo dia de idade.

As excretas foram coletadas em bandejas colocadas sob cada unidade experimental, revestidas com material plástico. Foram realizadas duas coletas ao dia, às oito e dezessete horas, para evitar fermentações fecais. No término do período de coleta foi verificada a quantidade de ração consumida e o total das excretas por unidade experimental.

As excretas coletadas foram colocadas em sacos plásticos identificados e armazenados em freezer (-10°C), até o período final de coleta. Também foi coletada uma amostra de cada ração para análises. As excretas então foram descongeladas e homogeneizadas, sendo retirada uma alíquota de 400 g, colocadas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 48 horas para pré-secagem. Após, o material foi exposto por duas horas à temperatura ambiente, pesado e moído em peneira de 1 mm de malha, determinando-se em seguida a matéria seca, energia bruta e nitrogênio. As dietas experimentais foram também analisadas para matéria seca, energia bruta e nitrogênio, conforme técnicas descritas por AOAC (1990). Todas as análises foram realizadas no laboratório de análises bromatológicas do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens, do Instituto de Zootecnia, da UFRRJ.

A partir dos resultados das análises de laboratório, bem como os dados de consumo de ração e produção de excretas, foram calculados os coeficientes de metabolizabilidade aparente da matéria seca (MS), do nitrogênio metabolizável (NM), e da energia bruta (EB), conforme a seguinte fórmula descrita por Schneider e Flat (1975):

$$\text{Metabolizabilidade Aparente (\%)} = \frac{\text{Nutriente ingerido (g)} - \text{Nutriente excretado (g)}}{\text{Nutriente ingerido (g)}} \times 100$$

Os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) serão calculados utilizando as equações propostas por Matterson *et al.* (1965), descritos abaixo:

$$\text{EMA (kcal/kg de MS)} = \frac{\text{EB Ingerida} - \text{EB Excretada}}{\text{MS Ingerida}}$$

$$\text{EMAn (kcal/kg de MS) do alimento} = \frac{(\text{EB Ingerida} - \text{EB Excretada}) \pm 8,22 \times (\text{BN})}{\text{MS Ingerida}}$$

2.6 Análises Estatísticas

Os dados foram analisados no programa estatístico SISVAR (2003) e quando observado efeito significativo pelo teste F, foi utilizado o teste SNK para comparação das médias com significância de 5% ($p < 0,05$) e todos os tratamentos com fitogênicos em relação ao controle negativo e controle positivo, pelo teste de Dunnett. O modelo matemático utilizado foi:

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

Sendo:

Y_{ij} = Valor observado relativo ao tratamento i , na repetição j ;

μ = média geral do experimento;

T_i = efeito do tratamento i , i = controle positivo; controle negativo; 150 mg/Kg de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol; 15 mg/Kg de capsaicina; 30 mg/Kg de capsaicina, sendo $i = 1, 2, 3, 4, 5$.

e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação, associado ao tratamento i na repetição j , sendo $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação da Metabolizabilidade

São apresentados na tabela 3 o coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), do nitrogênio (CMN), energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn). De acordo com as respostas observadas, foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) para a energia metabolizável aparente e para a energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio nos frangos para a fase inicial.

Tabela 3. Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), do nitrogênio (CMN), energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) das dietas experimentais na fase inicial

Tratamentos	CMMS (%)	CMN (%)	EMA/Kg MS	EMAn/Kg MS
CP	71,55	57,76	2.954,24 ^a	2.770,77 ^a
CN	69,86	54,69	2.775,65 ^c	2.605,14 ^b
CACICAP	69,37	53,49	2.742,91 ^c	2.578,78 ^b
CAPI	70,20	52,47	2.856,58 ^b	2.700,75 ^a
CAPII	71,15	58,03	2.923,86 ^{ab}	2.743,01 ^a
CV (%)	2,32	7,01	2,24	2,08

^{a,b}Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p < 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

Os frangos que receberam ração com antimicrobiano, igualmente aos frangos que receberam 30 mg/Kg de capsaicina, apresentaram melhores valores para EMA quando comparados aos tratamentos CN e CACICAP. Para os valores de EMAn, os melhores resultados foram encontrados nos grupos que receberam ração com antimicrobiano, 15 mg/Kg e 30 mg/Kg de capsaicina, quando comparados aos grupos CN e CACICAP. De acordo com Jamroz *et al.* (2006), a utilização de aditivos fitogênicos afeta de maneira benéfica as funções do trato intestinal devido a estimulação da secreção de muco no intestino, que prejudica a adesão de microrganismos patogênicos e permite a manutenção da microbiota normal.

O conhecimento das condições experimentais é fundamental para a interpretação dos resultados e para percepção de efeitos dos fitogênicos (BAURHOO *et al.*, 2007). Assim, as respostas observadas neste estudo com a inclusão da capsaicina à dieta podem ter sido demonstradas devido ao desafio sanitário que as aves foram submetidas na primeira semana de vida com o uso de maravalha reutilizada. Segundo Lee *et al.* (2003), a utilização de dietas altamente digestíveis dificulta a detecção de aumento da digestibilidade causada pela inclusão de aditivos. Apesar da dieta fornecida no presente estudo ser altamente digestível, à base de milho e farelo de soja, os pintinhos durante a primeira semana de vida foram criados em círculos de proteção com maravalha reutilizada como cama, o que pode ter favorecido na

obtenção de respostas significativas nos valores de EMA e a EMAn. O princípio ativo da pimenta vermelha, a capsaicina, tem sido demonstrado na literatura como um extrato vegetal que pode melhorar a digestibilidade de nutrientes, uma vez que estimula a ação enzimática digestiva (PLATEL e SRINIVASAN, 1996).

Ao utilizarem óleos essenciais de orégano, canela, pimenta e tomilho em rações de frangos de corte, García *et al.* (2007) relataram melhor digestibilidade da matéria seca e proteína bruta aos 42 dias de idade quando comparado às aves do grupo controle. Mountzouris *et al.* (2011) relataram diferença significativa para EMAn em frangos que receberam níveis crescentes (80, 125 e 250 mg/kg de ração) de mistura de óleos essenciais de orégano, anis e laranja, sendo que o tratamento que recebeu 80 mg/Kg resultou em maior EMAn em relação aos frangos do controle negativo.

3.2 Avaliação de Desempenho

No período de 9 a 21 dias de idade, houve diferença estatística ($p < 0,05$) para ganho de peso das aves, sendo que os frangos alimentados com a ração referência (controle negativo) apresentaram um menor ganho de peso quando comparados aos frangos do tratamento que recebeu ração com antimicrobiano (tabela 4).

Tabela 4. Consumo de ração (g), ganho de peso (g) e conversão alimentar em todo o período experimental

Variáveis	Tratamentos					CV(%)
	CP	CN	CACICAP	CAPI	CAPII	
09-21 dias						
Consumo de ração (g)	1132	1110	1134	1134	1130	4,31
Ganho de peso (g)	758 ^a	721 ^b	735 ^{ab}	733 ^{ab}	742 ^{ab}	2,51
Conversão alimentar	1,49	1,54	1,54	1,55	1,52	3,23
Viabilidade (%)	100	100	100	98,33	100	1,83
22-35 dias						
Consumo de ração (g)	2188	2205	2223	2223	2182	3,08
Ganho de peso (g)	1392	1330	1382	1350	1310*	3,73
Conversão alimentar	1,57	1,66*	1,61	1,65	1,67*	3,41
Viabilidade (%)	98,15	100	100	100	100	2,04
09-35 dias						
Consumo de ração (g)	3320	3316	3357	3357	3312	3,04
Ganho de peso (g)	2151 ^a	2051 ^b	2118 ^{ab}	2082 ^{ab}	2052 ^b	2,79
Conversão alimentar	1,54 ^a	1,62 ^b	1,58 ^{ab}	1,61 ^b	1,61 ^b	2,55
Viabilidade (%)	98,15	100	100	98,33	100	2,75

^{a,b} Médias com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p < 0,05$). *Diferem do controle positivo (CP) pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

No período de 22 a 35 dias, o ganho de peso das aves do grupo CAPII foi inferior ao do CP ($p < 0,05$). A pior conversão alimentar ($p < 0,05$) foi observada nos frangos dos grupos

controle negativo e CAPII, com os demais tratamentos apresentando valores estatisticamente iguais. Quando analisado o período total do experimento, de 9 a 35 dias, foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para ganho de peso e conversão alimentar, sendo que os frangos dos grupos controle negativo e CAPII apresentaram menor ganho de peso em comparação com os frangos do grupo controle positivo, sendo intermediários os valores dos demais grupos. Foi observada maior conversão alimentar dos frangos dos grupos CAPI, CAPII e CN quando comparados com o grupo CP, sendo os valores de conversão alimentar do grupo com cinamaldeído, capsaicina e carvacrol (CACICAP) estatisticamente igual à do grupo CP.

Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos para o parâmetro viabilidade. Os animais foram criados em gaiolas, em ambiente de baixo desafio sanitário, o que resultou em alta viabilidade em todos os grupos testados.

García *et al.* (2007) utilizando ácido fórmico, 200 ppm de extrato de orégano, canela e pimenta, 500 ppm de extrato de sálvia, tomilho e alecrim, controle negativo e controle positivo (avilamicina), observaram melhor conversão alimentar em todos os tratamentos, exceto para o controle negativo e o tratamento com sálvia, tomilho e alecrim. É importante ressaltar que os frangos do experimento de García *et al.* (2007) foram submetidos à condições de manejo semelhantes às granjas comerciais. Os autores ainda salientaram que é essencial o conhecimento do ambiente em que o animal será alojado para uma interpretação precisa dos resultados.

Em pesquisa realizada por Petrolli *et al.* (2012) o ganho de peso de frangos na fase inicial alimentados com cinamaldeído capsaicina e piperina foi semelhante aos alimentados com avilamicina, resultado também encontrado neste estudo. Os autores relacionam o resultado com a capacidade dos extratos em estimular a ação enzimática, melhorando a utilização dos nutrientes da dieta e também com o potencial antimicrobiano do carvacrol, contribuindo para a melhoria dos parâmetros avaliados.

Alterações nos dados de desempenho não foram encontradas por Rizzo *et al.* (2010), que utilizando 100 ppm de um composto de óleo essencial de orégano, canela e óleo-resina do extrato de pimenta, não encontraram diferenças entre os grupos estudados para frangos de corte de 1 a 42 dias de idade. Em trabalhos realizados por Toledo *et al.*, (2007) e Bravo *et al.* (2011), utilizando extratos vegetais na dieta de frangos de corte, também não foram observadas diferenças no desempenho das aves de 1 a 42 dias de idade. Os autores sugerem que os produtos utilizados nos experimentos não apresentaram efeitos no desempenho dos animais devido às condições experimentais que foram realizados, em ambiente de baixo desafio sanitário.

A utilização de produtos formulados com mais de um óleo essencial ou princípio ativo na dieta dos animais pode proporcionar melhores resultados em comparação aos produtos utilizados isoladamente (SANTURIO *et al.*, 2007; BRANCO *et al.*, 2011). Além de benefícios, a suplementação da dieta com extratos vegetais pode induzir efeitos negativos. A inclusão de níveis crescentes de fitogênicos para frangos de corte pode levar a redução de consumo de ração e piora de conversão alimentar (CROSS *et al.*, 2003).

3.3 Características de Carcaça

Os resultados para características de carcaça dos frangos abatidos aos 36 dias de idade apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) somente para peso vivo pós-jejum (tabela 5).

Tabela 5. Características de carcaça e cortes de frangos de corte abatidos aos 36 dias de idade

Variáveis	Tratamentos					CV(%)
	CP	CN	CACICAP	CAPI	CAPII	
	Peso absoluto (g)					
Peso vivo pós-jejum	2386 ^a	2281 ^b	2359 ^{ab}	2334 ^{ab}	2325 ^{ab}	3,59
Carcaça quente	1681	1606	1671	1640	1640	4,77
Asa	190	186	190	187	187	6,31
Coxa+sobrecoxa	513	487	505	512	497	5,32
Peito	645	608	636	599	614	7,40
Dorso	327	314	325	332	332	10,00
	Rendimento (%)					
Carcaça	70,41	70,38	70,82	70,24	70,55	2,14
Asa	11,31	11,60	11,40	11,39	11,40	5,67
Coxa+sobrecoxa	30,51	30,36	30,24	31,24	30,29	3,58
Peito	38,35	37,81	38,05	36,53	37,45	4,95
Dorso	19,46	19,57	19,45	20,24	20,20	8,39

^{a,b} Médias com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste SNK ($P < 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

Os frangos do tratamento controle negativo apresentaram menor peso vivo pós-jejum quando comparados aos frangos do tratamento controle positivo (avilamicina). Os frangos dos grupos CACICAP, CAPI E CAPII apresentaram valores intermediários para esta característica.

Estes resultados se assemelham aos observados por Fukayama *et al.* (2005), que utilizando diferentes concentrações de extrato de orégano, não relataram diferenças para rendimento de carcaça e peito em frangos de corte abatidos aos 42 dias de idade quando comparados ao controle negativo e positivo. Os autores observaram que o objetivo principal do extrato de orégano não é melhorar o desempenho e o rendimento de carcaça. Koiyama *et al.* (2014), utilizaram um tratamento com alecrim, cravo, gengibre e orégano, outro tratamento com canela, sálvia, tomilho-branco e óleo-resina de copaíba, e um terceiro tratamento utilizando as duas misturas, e observaram maior peso vivo pós-jejum para o grupo que recebeu antimicrobiano, para o grupo alimentado com canela, sálvia, tomilho-branco e óleo-resina de copaíba, e para o grupo que recebeu as duas misturas. Essa diferença, porém, não exerceu influência no rendimento de carcaça, resultado semelhante ao encontrado neste estudo.

Os fitogênicos utilizados nas rações deste estudo não alteraram as características de carcaça dos frangos, entretanto resultados significativos foram encontrados com outros fitogênicos por alguns autores. Simsek *et al.* (2007), verificaram efeitos positivos sobre o peso da carcaça quente ao utilizarem diferentes concentrações de óleo de anis. Al-Kassie (2009),

utilizara ração com óleos derivados do tomilho e da canela e observou melhor rendimento de carcaça quando comparado ao rendimento de frangos do controle negativo. El-Ghousein *et al.* (2009) observaram melhores resultados para rendimento de carcaça, coxa e peito quando adicionaram tomilho seco e triturado em rações de frangos de corte.

Na tabela 6, são apresentados os pesos absolutos e relativos da moela, fígado, coração e baço dos frangos abatidos aos 36 dias de idade.

Tabela 6. Pesos absolutos e relativos da moela, fígado, coração e baço dos frangos abatidos aos 36 dias de idade

Variáveis	Tratamentos					CV(%)
	CP	CN	CACICAP	CAPI	CAPII	
Pesos Absolutos (g)						
Moela	36,46	37,14	39,07	40,23	39,60	10,02
Fígado	41,80	42,19	39,13	38,74	38,45	9,82
Coração	11,92	11,52	11,68	11,64	11,19	11,30
Baço	2,93	3,13	2,58	2,58	2,41	25,85
Pesos Relativos (%)						
Moela	2,18	2,34	2,34	2,44	2,44	12,32
Fígado	2,49	2,64	2,34	2,35	2,37	10,23
Coração	0,71	0,72	0,70	0,71	0,69	12,28
Baço	0,17	0,20	0,15	0,15	0,15	26,77

Sem diferença estatística para o teste SNK ($p>0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

Não foram observadas diferenças estatísticas ($p>0,05$) para peso absoluto e relativo da moela, fígado, coração e baço. Esse resultado possivelmente deve-se às condições experimentais em que as aves se encontravam, com bom ambiente sanitário e, conseqüentemente, sem desafio para a percepção da atuação dos aditivos utilizados.

Kirkpinar *et al.* (2010) estudando a inclusão de óleo essencial de orégano e alho e a mistura de ambos, não relataram diferenças quanto ao peso dos órgãos, assim como Toghyani *et al.* (2011), ao avaliarem o efeito de pó de alho e canela, igualmente não constataram diferenças entre os grupos para peso dos órgãos de frangos abatidos aos 42 dias de idade.

4 CONCLUSÕES

A inclusão de 30 mg/kg de capsaicina resultou em EMA equivalente à ração dos frangos que receberam ração com avilamicina na fase inicial. Quanto à EMAn, valores semelhantes foram observados entre os grupos que receberam ração com avilamicina e com 15 e 30 mg/kg de capsaicina.

O uso de 30 mg/kg de capsaicina resultou em menor ganho de peso e pior conversão alimentar dos frangos nas fases de crescimento e total em relação aos frangos do tratamento contendo avilamicina. O uso de 15 mg/kg de capsaicina resultou em pior conversão alimentar no período total.

As características de carcaça não foram afetadas pelo uso dos fitogênicos estudados.

Pode ser considerada a utilização da mistura de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina na ração de frangos de corte, particularmente em dietas sem antimicrobianos.

CAPÍTULO IV

CARVACROL CINAMALDEÍDO E CAPSAICINA: ÍNDICES PRODUTIVOS E PARÂMETROS SANGUÍNEOS

RESUMO

BARROSO, Débora Costa. **Carvacrol, cinamaldeído e capsaicina: Índices produtivos e parâmetros sanguíneos**. 2016. 13p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Aditivos fitogênicos têm sido utilizados em estudos com frangos de corte devido a possíveis efeitos no metabolismo animal, como melhorar a utilização dos nutrientes e o sistema imune. Os objetivos deste trabalho foram avaliar o desempenho dos frangos nas diferentes fases (inicial, crescimento e final), o rendimento de carcaça e de cortes de frangos de corte abatidos aos 41 dias de idade e os parâmetros hematológicos. Foram utilizados os seguintes tratamentos: ração referência + antimicrobiano; ração referência; ração referência + 150 mg/Kg de ativos encapsulados de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol; ração referência + 15 mg/Kg de ativo microencapsulado de capsaicina; ração referência + 30 mg/Kg de capsaicina, sendo cinco tratamentos e quatro repetições por tratamento e 30 frangos por repetição, totalizando 600 frangos de corte. As rações referência foram formuladas para atender as exigências nutricionais para cada fase de vida dos frangos. O experimento foi realizado em galpão experimental, sendo as aves distribuídas nos boxes aos 11 dias de idade e pesadas aos 11, 21, 33 e 40 dias de idade (final do experimento), sendo o consumo de ração registrado para cálculo da conversão alimentar. Para avaliação de carcaça, foram abatidas catorze aves por tratamento ao 41º dia de idade. Para determinação do rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça quente, limpa e eviscerada, em relação ao peso vivo após o jejum. Amostras de sangue, de sete aves por tratamento, foram coletadas ao 41º dia de idade para análise hematológica. Os dados foram analisados e quando verificado efeito significativo foi utilizado o teste SNK para comparação das médias com significância de 5% ($p < 0,05$). Para consumo alimentar, ganho de peso e conversão alimentar não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos utilizados. Os frangos que receberam ração com 30 mg/Kg de capsaicina apresentaram menor peso vivo pós-jejum e menor peso de carcaça quente. Quanto aos parâmetros sanguíneos, valores de hematócrito, proteínas totais, eosinófilos, monócitos, linfócitos e heterófilos foram estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Com base nos resultados, o uso de 30 mg/Kg de capsaicina não é recomendado, pois afetou negativamente o peso vivo pós-jejum e peso da carcaça quente.

Palavras-chave: Fitogênicos, Desempenho, Parâmetros sanguíneos.

ABSTRACT

BARROSO, Debora Costa. **Carvacrol, cinnamaldehyde, capsaicin: Production rates and blood parameters**. 2016. 13p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Phytogenic additives have been used in studies with broilers because of possible effects on animal metabolism, improving the utilization of nutrients and the immune system. The objectives of this study were to evaluate the performance of broiler chickens in the different phases (starting, growing and finishing), carcass yield and broiler cuts slaughtered at 41 days of age and hematological parameters. The following treatments were used: basal diet + antimicrobial; reference diet; basal diet + 150 mg / kg of encapsulated active cinnamaldehyde, capsaicin and carvacrol; basal diet + 15 mg / kg of active microencapsulated capsaicin; basal diet + 30 mg / kg capsaicin, with five treatments and four replicates per treatment and 30 birds per repetition, totaling 600 broilers. The reference diets were formulated to meet the nutritional requirements for each of the chickens life stage. The experiment was conducted in an experimental shed, and the birds distributed in the pits at 11 days old and weighed at 11, 21, 33 and 40 days of age (end of the experiment), and feed intake recorded for calculation of feed conversion. For carcass evaluation, fourteen birds were slaughtered per treatment to 41 days old. To determine carcass yield, it was considered the hot carcass weight, cleaned and gutted, relative to body weight after fasting. Blood samples, seven birds per treatment were collected at 41 days old for hematological analysis. Data were analyzed and verified when significant effect was the SNK test used to compare means with significance level of 5% ($p < 0.05$). To food intake, weight gain and feed conversion no significant differences ($p > 0.05$) between treatments. The chickens that were fed diet with 30 mg / kg Capsaicin had lower post-fasting body weight and lower weight of hot carcass. As for the blood parameters, hematocrit, total protein, eosinophils, monocytes, lymphocytes and heterophils were statistically similar ($p > 0.05$) between treatments. Based on the results, the use of 30 mg / kg Capsaicin is not recommended because it negatively affected the post-fasting body weight and hot carcass weight.

Keywords: Phytogenic, Performance, Blood parameters.

1 INTRODUÇÃO

Os fitogênicos são classificados como aditivos zootécnicos equilibradores da flora intestinal e são definidos como produtos que trazem benefícios específicos à saúde, além dos nutrientes tradicionais que eles contêm, possuindo tropismo específico para determinados órgãos ou tecidos alvo, a fim de restabelecer sua função (COMPÊNDIO..., 2009). Seu uso tem sido pesquisado frente à possibilidade de manter o desempenho e saúde animal com a retirada dos antimicrobianos das rações.

Os aditivos fitogênicos, quando adicionados em rações de frangos, podem ser eficientes em criar uma microflora intestinal saudável, melhorar a digestão dos alimentos, melhorando a utilização dos nutrientes e proporcionando melhores resultados no desempenho dos animais (LEVIC *et al.*, 2007, EL-GHOUSEIN *et al.*, 2009), proveniente de ação antimicrobiana, capacidade de melhorar a resposta imune e de modular o sistema imunológico, dentre outras ações (PUVACA *et al.*, 2013; MISHRA, 2014).

Em estudo realizado por Ertas *et al.*, (2005), foram adicionados três tipos de óleos essenciais derivados do orégano, cravo e erva doce em rações de frangos, tendo os autores verificado que a ração com 200 ppm da mistura do óleo essencial proporcionou, aos 35 dias de idade, maior ganho de peso e melhor conversão alimentar, quando comparado com a ração com 400 ppm de óleo essencial e com avilamicina, , ressaltando a importância não só do uso do fitogênico, mas da sua concentração, que em doses superiores pode se tornar tóxica aos animais. Já Barreto *et al.* (2008) e Corduk *et al.* (2013) não constataram efeitos benéficos no desempenho de frangos recebendo ração suplementada com pimenta e orégano.

Cardoso *et al.* (2008) ao trabalharem com piperina na dieta de frangos de corte, observaram aumento do número total e específico de leucócitos e do número de heterófilos, quando comparados ao grupo controle, constatando estimulação do sistema imunológico das aves. Da mesma forma Al-Kassie (2009) utilizando 100 e 200 ppm de óleo essencial de timol e 100 e 200 ppm de óleo essencial de canela em frangos de corte, relataram maior taxa de heterófilo:linfócito, contagens de leucócitos, hemácias e hemoglobina com o uso dos óleos essenciais em comparação ao grupo controle.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o uso de cinamaldeído, capsaicina e carvacrol na dieta de frangos de corte e seus efeitos sobre o desempenho, características de carcaça e parâmetros hematológicos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local e Período Experimental

O experimento foi realizado no galpão experimental do setor de avicultura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica-RJ, latitude 22° 45' S, longitude 43° 41' W, no período de 05 de junho a 16 de julho de 2014. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética na Pesquisa da UFRRJ, através do processo 23083.010805/2013-17, atendendo aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais e estando de acordo com os princípios éticos e do bem-estar animal.

2.2 Animais, Instalações e Manejo

Foram utilizados 600 pintos de corte, machos da linhagem Cobb, de 11 a 41 dias de idade, vacinados contra Bouda Aviária e doença de Marek no incubatório. O peso médio dos pintos no alojamento foi de 47 gramas. Os pintos foram alojados em círculos de proteção com campânula a gás do primeiro ao décimo dia de idade, comedouros tipo bandeja e bebedouros tipo copo, onde receberam ração formulada para atender as exigências nutricionais para a idade (ROSTAGNO *et al.*, 2011). Após essa idade, os frangos foram distribuídos em 20 boxes medindo 1,0 m x 5,0 m cada, contendo dois comedouros tubulares e um bebedouro pendular em cada boxe, sendo 30 frangos por cada unidade experimental. Como cama foi usada maravalha reutilizada, obtida no próprio Setor de Avicultura.

As aves foram submetidas a 24 horas de iluminação (natural + artificial) durante todo o período experimental com o objetivo de aumentar o período de consumo, aquecimento e evitar acidentes.

Os animais foram pesados na sua chegada, ao primeiro dia de vida, aos 11°, 21°, 33° e 40° dia de idade (final do experimento), e o consumo de ração foi registrado nos mesmos dias das pesagens para cálculo da conversão alimentar.

As temperaturas máximas e mínimas foram anotadas diariamente com a utilização de termômetros de bulbo seco localizados em dois pontos distintos da sala e estão apresentadas na tabela a seguir.

Tabela 1. Temperatura máxima, mínima e média (°C) registradas durante o período experimental

Períodos (dias)	Temperaturas (°C)		
	Máxima	Mínima	Média
11 a 17	24,00	20,00	22,00
18 a 24	29,43	19,29	24,36
25 a 31	28,43	19,86	24,14
32 a 40	24,67	18,56	21,61
11 a 40	26,63	19,42	23,03

2.3 Dieta Basal

Foram utilizadas três rações (tabela 2) de forma a atender as exigências nutricionais de cada fase de criação: inicial (11 a 21 dias), crescimento (22 a 33 dias) e final (34 a 41 dias) formuladas de acordo com as recomendações de Rostagno *et al.* (2011).

Tabela 2. Composição percentual e calculada das rações balanceadas

Ingredientes (%)	11 a 21 dias	22 a 33 dias	34 a 41 dias
Milho (7,25%)	56,227	59,060	62,622
Farelo de soja (44,20%)	37,594	33,946	30,683
Óleo de soja	2,618	3,626	3,671
Fosfato bicálcico	0,971	1,253	1,043
Calcário calcítico	1,257	0,864	0,769
Cloreto de sódio	0,482	0,457	0,444
DL-metionina	0,285	0,259	0,235
L-lisina HCl	0,163	0,151	0,162
L-treonina	0,048	0,034	0,031
Suplemento mineral ¹	0,100	0,100	0,100
Suplemento vitamínico ²	0,100	0,100	0,100
Cloreto de colina	0,055	0,050	0,040
Caulim	0,100	0,100	0,100
Total %	100,000	100,000	100,000
Nutrientes	Composição calculada		
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3000	3100	3150
Proteína bruta (%)	21,040	19,596	18,404
Cálcio (%)	0,819	0,732	0,638
Fósforo disponível (%)	0,296	0,342	0,298
Sódio	0,210	0,200	0,195
Lisina total (%)	1,294	1,189	1,114
Lisina digestível (%)	1,194	1,097	1,027
Metionina total (%)	0,592	0,549	0,510
Metionina digestível (%)	0,568	0,526	0,489
Metionina+Cistina total (%)	0,932	0,868	0,813
Metionina+Cistina digestível (%)	0,859	0,799	0,748
Treonina total (%)	0,880	0,809	0,758
Treonina digestível (%)	0,769	0,705	0,659
Triptofano total (%)	0,265	0,243	0,225
Triptofano digestível (%)	0,246	0,226	0,209
Ácido linoleico	2,785	3,336	3,399

¹ Ferro (min) 50 g/kg; cobre (min) 8.000 mg/kg; manganês (min) 70 g/kg; zinco (min) 70 g/kg; iodo (min) 800 mg/kg. ² Vitamina A (min) 7.000.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.000.000 UI/kg; vitamina E (min) 11.000 UI/kg; vitamina K3 (min) 1.500 mg/kg; tiamina (min) 1.800 mg/kg; riboflavina (min) 5.000 mg/kg; piridoxina (min) 2.400 mg/kg; vitamina B12 (min) 10.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; pantoato de cálcio (min) 11,5 g/kg; biotina (min) 40 mg/kg; ácido fólico (min) 800 mg/Kg; selênio (min) 300 mg/Kg

Os aditivos em estudo foram adicionados à ração em substituição ao inerte (caulim), sendo mantidos assim os mesmos níveis nutricionais em todas as rações.

2.4 Delineamento Experimental e Tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), sendo cinco tratamentos e quatro repetições com 30 aves por unidade experimental, totalizando 20 unidades experimentais e 600 aves.

Os tratamentos foram: CP - dieta referência + antimicrobiano (controle positivo); CN – dieta referência (controle negativo); CACICAP – dieta referência + 150 mg/Kg de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina; CAPI – dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII – dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina. A água à foi fornecida à vontade.

Foram estudados os aditivos fitogênicos o produto XTract™, que é uma mistura de ativos microencapsulados contendo carvacrol, cinamaldeído e capsaicina e o produto XTract® CAPS XL, que é um ativo microencapsulado contendo capsaicina, ambos cedidos pela empresa PANCOSMA SA. O XTract™ e o XTract® CAPS XL são microencapsulados de cor laranja, cheiro característico e sem evidências de impurezas. O XTract™ foi adicionado às dietas na dose de 150 g/t em todas as fases. O XTract® CAPS XL foi adicionado na dose de 15 g/t e na dose de 30 g/t em todas as fases.

O antimicrobiano utilizado no experimento foi a avilamicina, segundo modelo experimental para pesquisa e desenvolvimento de ativos alternativos para frangos de corte descrito por de Bellaver *et al.* (2002).

2.5 Parâmetros Avaliados

Foram avaliados consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar, como parâmetros de desempenho. O consumo foi calculado considerando a ração fornecida e a sobra de ração contida nos comedouros ao final de cada período experimental, dividindo-se posteriormente pelo número de aves por compartimento. Na ocorrência de morte, a ração do comedouro foi imediatamente pesada para o cálculo do consumo de ração corrigida. O ganho de peso foi determinado pela diferença entre o peso final e inicial de cada período. A conversão alimentar foi obtida pela relação entre o consumo de ração e o ganho de peso em cada período.

Para avaliação de carcaça, foram abatidas catorze aves por tratamento. As aves foram submetidas a um jejum de 8 horas antes do abate, quando os animais foram pesados e, em seguida, abatidos. Os frangos foram atordoados por deslocamento cervical, sangrados, escaldados a aproximadamente 54 °C por dois minutos, depenados em máquina depenadeira (figura 1) e eviscerados manualmente, retirando-se cabeça, pescoço e pés. As carcaças foram pesadas após gotejamento para avaliação do peso da carcaça quente, e logo em seguida foram realizados os cortes (asa, peito, coxa + sobrecoxa e dorso) e pesagem dos mesmos. Para determinação do rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça quente, limpa e eviscerada, em relação ao peso vivo após o jejum.



Figura 1. Registro fotográfico. A – Máquina depenadeira. B – Pesagem de cortes (asas)

Amostras de sangue, de sete aves por tratamento, foram coletadas ao 41º dia de idade para análise hematológica. As amostras para as análises do hemograma e leucograma foram coletadas em tubos contendo anticoagulante (EDTA). Em seguida, as amostras foram transportadas sob refrigeração ao Laboratório de Patologia Clínica do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para análises.

A concentração de proteínas plasmáticas totais (PPT) foi determinada por refratometria (COLES, 1984).

A determinação do hematócrito foi feita através do método do microhematócrito, segundo metodologia descrita por Jain (1993).

A contagem diferencial de leucócitos foi realizada por meio de esfregaços sanguíneos corados com giemsa para determinação dos valores relativos de linfócitos, eosinófilos, heterófilos e monócitos.

2.6 Análises Estatísticas

Os dados foram analisados no programa estatístico SISVAR (2003) e quando verificado efeito significativo pelo teste F foi utilizado o teste SNK para comparação das médias com significância de 5% ($P < 0,05$) e todos os tratamentos com fitogênicos em relação ao controle negativo e controle positivo, pelo teste de Dunnett. O modelo matemático utilizado foi:

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

Sendo:

Y_{ij} = Valor observado relativo ao tratamento i , na repetição j ;

μ = média geral do experimento;

T_i = efeito do tratamento i , i = controle positivo; controle negativo; 150 mg/Kg de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina; 15 mg/Kg de capsaicina; 30 mg/Kg de capsaicina sendo $i = 1, 2, 3, 4, 5$.

e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação, associado ao tratamento i na repetição j , sendo $j = 1, 2, 3, 4$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Parâmetros Sanguíneos

Os resultados obtidos para hemograma dos frangos estão presentes na tabela 3 e nas figuras 1 e 2. Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) nos valores encontrados,

Tabela 3. Efeito dos tratamentos nos valores médios para a contagem dos hematócritos, proteínas totais, eosinófilos, heterófilos, linfócitos e monócitos do sangue de aves aos 41 dias de idade

Variáveis	Tratamentos					CV(%)
	CP	CN	CACICAP	CAPI	CAPII	
Hematócrito (%)	26,00	24,40	25,43	22,80	25,00	19,86
Proteínas totais (g/dl)	3,5	3,8	3,7	3,5	3,9	46,92
Eosinófilos (%)	2	4	2	3	3	66,25
Heterófilos (%)	52	47	53	54	52	30,51
Linfócitos (%)	40	42	40	41	38	37,13
Monócitos (%)	5	7	7	5	7	57,02

Médias não diferem estatisticamente pelo teste SNK e Dunnett ($p>0,05$). CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

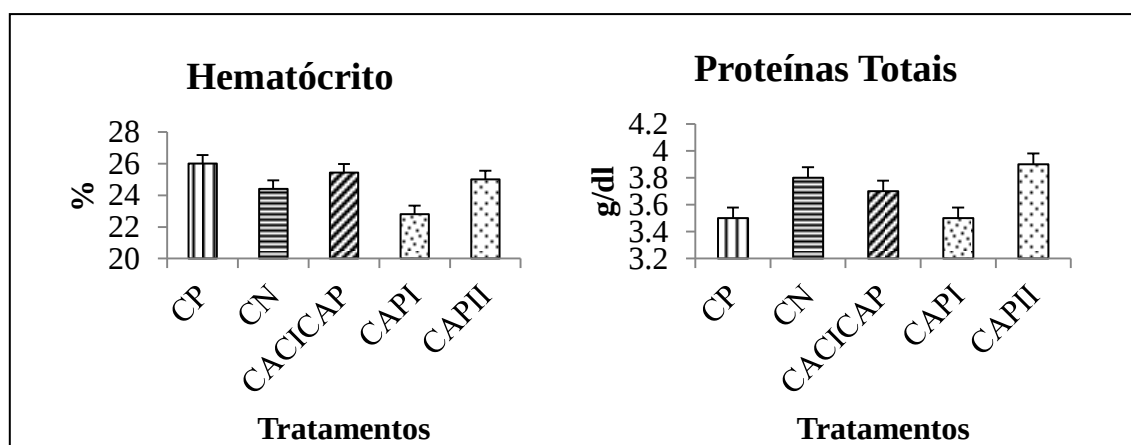


Figura 01. Efeito dos tratamentos nos valores médios para a contagem do hematócrito e proteínas totais. Médias não diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p>0,05$) e Dunnett ($p>0,05$). CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

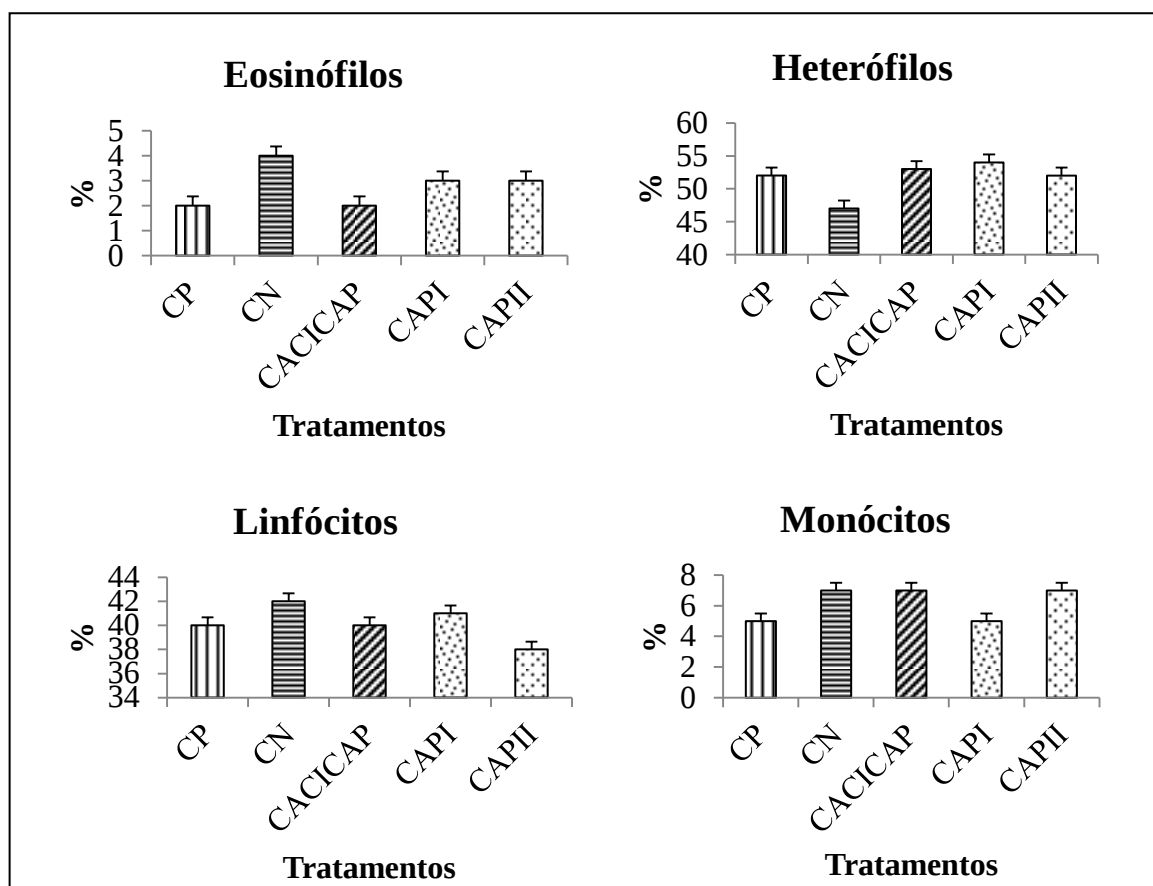


Figura 02. Efeito dos tratamentos nos valores médios para a contagem diferencial dos leucócitos. Médias não diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p > 0,05$) e Dunnett ($p > 0,05$). CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

Os diferentes tratamentos contendo antimicrobiano, mistura de capsaicina, cinamaldeído e carvacrol, a capsaicina isolada e o tratamento com o dobro da capsaicina não resultaram em diferenças significativas nos valores médios da porcentagem de hematócrito, número de proteínas plasmáticas totais, e nas porcentagens de linfócitos, heterófilos, eosinófilos e monócitos como contagem diferencial de leucócitos, estando estes valores de acordo com os índices de normalidade encontrados no grupo controle.

Os parâmetros hematológicos são de grande importância na avaliação clínica do estado de saúde. São bons indicadores do estado fisiológico, patológico e nutricional do animal e mudanças nesses parâmetros têm o potencial de serem usadas para elucidar o impacto de aditivos fornecidos na dieta (TOGHYANI *et al.*, 2010).

Os valores apresentados são semelhantes aos valores descritos para frangos de corte (CARDOSO e TESSARI, 2003; TESSARI *et al.*, 2006). Esses valores não se alteraram o que sugere ausência de doenças ou quadros infecciosos, uma vez que a variação da taxa de leucócitos pode indicar a presença de infecções.

Em estudo utilizando piperina em frangos de corte intoxicados com aflatoxinas, Cardoso *et al.*, (2008) relataram influência deste fitogênico na resposta imune, observando

que a presença da piperina preservou a taxa de hematócritos e o leucograma, quando comparados aos frangos intoxicados com aflatoxina e que não receberam piperina.

O hematócrito corresponde à percentagem de glóbulos vermelhos em função do volume total de sangue e é um importante fator que determina o grau de anemia e padrões de transporte de gases (MAXWELL *et al.*, 1992). De acordo com Roll *et al.* (2010), geralmente observa-se que o hematócrito aumenta em situações de estresse, porém pode haver decréscimo acentuado em casos de intoxicação por níveis elevados de toxinas, doenças agudas ou crônicas, septicemias e doenças hemorrágicas.

Al-Kassie (2009) adicionando óleo essencial de tomilho e canela na dieta de frangos de corte observou aumento significativo dos leucócitos em relação aos frangos do grupo controle e diminuição da taxa de heterófilo:linfócito, e concluíram que o uso dos óleos essenciais pode ser considerado como um promotor de crescimento para frangos em potencial.

Em experimento com níveis crescentes de piperina (0, 60, 120 e 180 mg/Kg), Cardoso *et al.*, (2012) relataram redução do número total de leucócitos com a maior concentração de piperina (180 mg/Kg), diminuição dos monócitos com a presença de piperina (60, 120 e 180 mg/Kg) e diminuição do heterófilo no hemograma dos frangos alimentados com 180 mg/Kg de piperina, comparados ao grupo controle, constatando que esta concentração é tóxica para leucócitos, resultando em leucopenia. Neste trabalho, não foram constatados intoxicação quando utilizado o nível superior de capsaicina (30 mg/Kg de ração), não havendo alteração das respostas hematológicas.

Utilizando óleo essencial de timol e carvacrol, Hashemipour *et al.* (2013) descrevem que a relação heterófilo:linfócito reduziu linearmente em frangos alimentados com os dois óleos essenciais, mas outros parâmetros testados, como percentual de hematócrito, não foram influenciados pelas dietas experimentais. Os autores ressaltam que a relação heterófilo:linfócito é um índice biológico de estresse em aves, e quanto mais baixa for essa taxa, maior a influência positiva do timol e carvacrol na redução do estresse dos frangos.

Segundo Najafi e Taherpour (2014), o uso de canela em pó nas dietas de frangos é uma alternativa ao uso dos antimicrobianos melhoradores de desempenho por manter o desempenho e melhorar parâmetros de saúde como conteúdo de hemácias e hemoglobinas. Entretanto, em condições sanitárias favoráveis, a percepção da ação dos fitogênicos pode ser dificultada. Apesar de esta pesquisa fazer uso da cama aviária reutilizada, este desafio aparentemente não foi suficiente para demonstrar a ação dos fitogênicos nos parâmetros hematológicos descritos.

3.2 Avaliação do Desempenho

As médias das variáveis consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade para os períodos de 11 a 21, 22 a 33 e 34 a 40 dias estão apresentadas na tabela 4. Para os parâmetros de desempenho, não houve diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos utilizados.

Os fitogênicos são descritos na literatura por apresentar efeitos benéficos ao organismo animal, como antimicrobiano (UTIYAMA *et al.*, 2006), antioxidante (ZHANG *et al.*, 2009), por melhorar o aproveitamento dos nutrientes (BRUGALI, 2003) e outros, mas sua ação não pode ser observada na análise de desempenho neste estudo.

Os resultados dessa pesquisa estão de acordo com Barreto *et al.*, (2008), que utilizando extrato de orégano (carvacrol), extrato de canela (cinamaldeído) e extrato de pimenta vermelha (capsaicina) em rações com e sem antimicrobiano (avilamicina) nas fases de 1 a 21 e 1 a 42 dias de idades de frangos de corte, não constatarem diferenças no consumo, ganho de peso e conversão alimentar. Também Corduk *et al.* (2013) utilizando óleo essencial de orégano e óleo essencial de pimenta vermelha não comprovaram efeitos benéficos no ganho de peso de frangos na fase inicial (0 a 21 dias de idade). Segundo os autores, a ausência de efeito dos óleos essenciais pode estar ligada a composição da dieta basal e das condições ambientais, uma vez que frangos bem nutridos e saudáveis, e alojados em condições ambientais limpas e desinfetadas não respondem aos óleos essenciais.

Tabela 4. Consumo de ração (g), ganho de peso (g) e conversão alimentar em todo o período experimental

Variáveis	Tratamentos					CV (%)
	CP	CN	CACICAP	CAPI	CAPII	
11-21 dias						
Consumo de ração (g)	925	974	975	985	923	4,39
Ganho de peso (g)	620	648	644	649	612	4,96
Conversão alimentar	1,49	1,50	1,52	1,52	1,51	3,68
Viabilidade (%)	100	99,17	99,17	98,33	97,50	1,57
22-33 dias						
Consumo de ração (g)	2033	1975	2007	2009	1972	3,39
Ganho de peso (g)	1307	1292	1303	1308	1277	3,56
Conversão alimentar	1,55	1,53	1,54	1,54	1,54	3,08
Viabilidade (%)	99,17	99,14	97,44	100	98,24	2,43
34-40 dias						
Consumo de ração (g)	1473	1450	1512	1453	1473	2,21
Ganho de peso (g)	836	825	847	806	838	4,47
Conversão alimentar	1,76	1,76	1,79	1,8	1,76	3,96
Viabilidade (%)	98,27	100	99,14	99,14	99,11	1,63
11-40 dias						
Consumo de ração (g)	4420	4435	4412	4510	4372	2,40
Ganho de peso (g)	2795	2780	2712	2800	2737	2,02
Conversão alimentar	1,58	1,60	1,62	1,61	1,60	1,62
Viabilidade (%)	97,44	98,30	95,75	97,47	94,85	2,94

Médias não diferem estatisticamente pelo teste SNK ($P>0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

Em experimento realizado por Tony *et al.* (2006), os autores incluíram pimenta e canela na dieta de frangos de corte nas quantidades de 1 e 2 g/Kg. Aos 42 dias de idade das aves, foi observado aumento do ganho de peso no grupo que recebeu 2 g/Kg dos dois fitogênicos, sugerindo que os aditivos à base de plantas são estimados pelo seu efeito benéfico sobre a digestão de nutrientes. Segundo os autores, a capsaicina (princípio ativo da pimenta), o cinamaldeído e o eugenol (princípios ativos da canela) possuem forte atividade antimicrobiana e antioxidante, portanto, podem atuar como promotores de crescimento, que

por sua vez, inibem microrganismos patogênicos no intestino e melhoram a digestão e absorção.

Segundo Leite *et al.* (2012) melhores resultados de desempenho e digestibilidade são obtidos principalmente quando a adição de aditivos fitogênicos em rações de frangos ocorre em condições de desafio sanitário. No presente estudo foi usada maravalha reutilizada como cama para os frangos em uma tentativa de aumentar o desafio sanitário, entretanto um desafio maior pode ser necessário em estudos sobre as possíveis ações de fitogênicos.

Em estudo feito por Toledo *et al.*, (2007), os autores relataram menores percentuais de mortalidade em frangos tratados com aditivos à base de orégano, canela, eucalipto, artemísia e trevo quando comparados ao grupo controle. Este efeito, entretanto não pôde ser comprovado no presente estudo, já que todos os valores de viabilidade foram elevados.

3.3 Características de Carcaça

Na tabela 5, são apresentados os resultados das características de carcaça dos frangos abatidos aos 41 dias de idade. Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para peso vivo pós-jejum e peso da carcaça quente. O peso vivo pós-jejum dos frangos alimentados com a ração CAPII foi menor do que o dos tratamentos CP, CN e CACICAP, tendo os frangos do tratamento CAPI valor intermediário. Para a carcaça quente, o menor peso foi observado também nos frangos do tratamento CAPII, sendo os maiores pesos nos tratamentos CP e CACICAP, e os demais com valores intermediários. Esses valores não se refletiram no rendimento, uma vez que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 5. Características de carcaça de frangos de corte abatidos aos 41 dias de idade

Variáveis	Tratamentos					CV(%)
	CP	CN	CACICAP	CAPI	CAPII	
	Peso absoluto (g)					
Peso vivo pós-jejum	3068 ^a	3083 ^a	3086 ^a	3030 ^{ab}	2996 ^b	2,08
Carcaça quente	2236 ^a	2200 ^{ab}	2234 ^a	2201 ^{ab}	2147 ^b	3,12
Asa	237	242	240	240	237	6,17
Coxa+sobrecoxa	643	631	648	637	622	4,14
Peito	901	877	887	882	864	6,37
Dorso	437	431	436	420	407	8,36
	Rendimento (%)					
Carcaça	72,87	71,36	72,39	72,64	71,66	1,99
Asa	10,61	11,03	10,73	10,92	11,04	6,36
Coxa+sobrecoxa	28,78	28,69	29,04	28,96	28,97	4,03
Peito	40,29	39,84	39,68	40,06	40,23	4,74
Dorso	19,53	19,60	19,54	19,08	18,96	7,83

^{a, b} Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste SNK ($P > 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

O uso do carvacrol, cinamaldeído e capsaicina nas dosagens usadas nos tratamentos não foram suficientes para demonstrar diferenças entre os tratamentos, o controle positivo e o controle negativo. Resultados encontrados por Fukayama *et al.*, (2005), utilizando diferentes concentrações de extrato de orégano (carvacrol) e dieta utilizando antimicrobiano (controle positivo), não apontaram diferenças nas respostas para carcaça. Em estudo utilizando óleo essencial de orégano, Bozkurt *et al.* (2009), também não relataram diferenças para rendimento de carcaça dos frangos de corte quando comparados aos grupos controle positivo e controle negativo, e atribuíram a falta de resposta com o uso dos aditivos fitogênicos às condições de alojamento a qual as aves foram criadas, que eram limpas e sem estresse.

A inclusão do dobro do ativo microencapsulado de capsaicina afetou negativamente o peso vivo pós-jejum e o peso da carcaça quente, sendo necessárias novas avaliações para verificação de possível toxicidade quando usada em doses elevadas.

As informações da tabela 6 relacionam o peso absoluto e relativo do coração, baço, bursa, moela, fígado, intestino delgado e intestino grosso dos frangos abatidos aos 41 dias de idade.

Tabela 6. Peso absoluto e relativo do coração, baço, bursa, moela, fígado, intestino delgado e intestino grosso de frangos de corte abatidos aos 41 dias de idade

Variáveis	Tratamentos					
	CP	CN	CACICAP	CAPI	CAPII	CV(%)
Peso absoluto (g)						
Carcaça quente	2236 ^a	2200 ^{ab}	2234 ^a	2201 ^{ab}	2147 ^b	3,12
Coração	19,50	19,61	19,37	17,63	19,01	11,95
Baço	3,15 ^b	4,09 ^{ab}	4,68 ^a	3,56 ^{ab}	4,10 ^{ab}	21,40
Bursa	5,18	6,86	6,99	6,00	6,05	21,47
Moela	44,27	43,70	41,67	40,06	41,72	11,58
Fígado	51,57	55,09	53,49	55,73	55,78	11,69
Intestino Delgado	52,20	57,73	54,66	53,34	53,61	14,43
Intestino Grosso	23,06	23,76	21,10	21,92	22,13	11,12
Peso relativo (%)						
Coração	0,86	0,89	0,85	0,78	0,88	13,32
Baço	0,14 ^b	0,18 ^{ab}	0,20 ^a	0,16 ^{ab}	0,19 ^{ab}	20,90
Bursa	0,23	0,31	0,30	0,27	0,28	21,77
Moela	1,96	1,99	1,82	1,78	1,92	12,54
Fígado	2,28	2,50	2,35	2,47	2,58	11,59
Intestino Delgado	2,31	2,63	2,39	2,36	2,49	15,68
Intestino Grosso	1,02	1,08	0,92	0,97	1,02	12,91

^{a, b} Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste SNK ($P > 0,05$). CP – controle positivo; CN – controle negativo; CACICAP - dieta referência + 150 mg/Kg de cinamaldeído, carvacrol e capsaicina; CAPI - dieta referência + 15 mg/Kg de capsaicina; CAPII - dieta referência + 30 mg/Kg de capsaicina

Não houve diferenças significativas entre os parâmetros avaliados, com exceção do baço, que apresentou maior peso absoluto e relativo nos frangos alimentados com CACICAP e menor peso absoluto e relativo no baço dos frangos do tratamento CP. Segundo Mast e Goddeeris (1999), o baço fornece um microambiente de interação entre células linfóides e não

linfóides, e é responsável principalmente por armazenar e transportar linfócitos para circulação e tecidos.

Koiyama *et al.* (2014), utilizando mistura de óleos essenciais de alecrim, cravo, gengibre e orégano e também mistura de canela, sálvia, tomilho branco e óleo-resina de copaíba relataram aumento do peso relativo do baço no grupo que recebeu as duas misturas em conjunto, associando o aumento do órgão à maior mobilização imunológica devido aos desafios aos quais as aves foram submetidas. Alipour *et al.* (2015), utilizando níveis de extrato de tomilho, controle positivo com antimicrobiano e controle negativo, não foram constatadas diferenças no peso do baço de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade. Esse efeito significativo ($p < 0,05$) não expressa necessariamente alteração no sistema imune, sendo importante a avaliação de outros fatores para observar o efeito em questão.

4 CONCLUSÕES

A inclusão do fitogênico carvacrol, cinamaldeído e capsaicina não influenciaram o desempenho dos frangos.

O uso de 30 mg/kg de capsaicina comprometeu os resultados produtivos.

A mistura dos ativos microencapsulados carvacrol, cinamaldeído e capsaicina e o ativo microencapsulado de capsaicina na dose de 15 mg/kg podem ser utilizados em rações para frangos de corte, em especial quando não há inclusão de antimicrobianos.

CONCLUSÕES GERAIS

O uso na ração de frangos de corte de 60 mg/kg de piperina, de 150 mg/kg dos ativos microencapsulados de carvacrol, cinamaldeído e capsaicina, e de 15 mg/kg de capsaicina pode promover resultados satisfatórios quanto à metabolizabilidade de nutrientes, parâmetros de desempenho e carcaça, peso de órgãos, morfometria intestinal, parâmetros sanguíneos, atividade enzimática da catalase e pancreática proteásica e amilásica, justificando seu uso, em especial, em rações sem antimicrobianos melhoradores de desempenho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAM, K.; SIVROPOULOU, A.; KOKKINI, S.; LANARAS, T.; ARSENAKIS, M. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. **Journal Agriculture Food Chemical**, v. 46, p. 1739-1745, 1998.
- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v.105, p.121-126, 1984.
- AL-HOWIRINY, T.; ALSHEIKH, A.; ALQASOUMI, S.; AL-YAHYA, M.; ELTAHIR, K.; RAFATULLAH, S. Protective Effect of *Origanum majorana* L. “Marjoram” on various models of gastric mucosal injury in rats. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 37, n. 3, p. 531-545, 2009.
- AL-KASSIE, G. A. M. Influence of two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. **Pakistan Veterinary Journal**, v.29, n.4, p.169-173, 2009.
- ALIPOUR, F.; HASSANABADI, A.; GOLIAN, A.; NASSIRI-MOGHADDAM, H. Effect of plant extracts derived from thyme on male broiler performance. **Poultry Science**, v.94, n.11, p.2630-2634, 2015.
- ALMEIDA, J. M.; STEFANI, L. C. M.; LOYOLA, W.; BACKES, R. G.; BIFFI, C. P.; NEVES, G. B. Importância da imunidade nas aves. In: **Simpósio de Sustentabilidade e Ciência Animal**, 3, 2013, Pirassununga. *Anais...*Pirassununga: FMVZ-USP, 2013.
- AMAND, A. A.; MÄNNER, K.; WENDLER, K. R.; NEUMANN, K.; ZENTEK, J. Effects of a phytogenic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**, v.90, p.2811–2816, 2011.
- ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological Activities of *Curcuma longa* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.
- ARTONI, S. M. B.; NAKAGHI, L. S.; BORGES, L. L.; MACARI, M. Sistema digestório das aves. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. (Eds.). **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2014. p. 3-15.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMIST. **Official methods of analysis**. 15 ed. Arlington, 1230 p., 1990.
- AWAAD, M. H. H.; ELMENAWAY, M.; AHMED, K. A. Effect of a specific combination of carvacrol, cinnamaldehyde, and on the growth performance, carcass quality and gut integrity of broiler chickens. **Veterinary World**, v.7, n.4, p.284-290, 2014.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**. v. 46, p.446-475, 2008.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2006.

- BARRETO, M. S. R.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; PEREIRA, P. W. Z.; RIZZO, P. V. Plant extracts used as growth promoters in broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.10, p.109–115, 2008.
- BAURHOO, B.; LETELLIER, A.; ZHAO, X.; RUIZ-FERIA, C. A. Cecal populations of lactobacilli and bifidobacteria and Escherichia coli populations after in vivo Escherichia coli challenge in birds fed diets with purified lignin or mannanoligosaccharides. **Poultry Science**, v.86, n.12, p.2509-2516, 2007.
- BELLAVER, C. Utilização de Melhoradores de Desempenho na produção de suínos e de Aves. In: **Congresso Internacional de Zootecnia**, 7, 2005, Campo Grande. *Anais...* Campo Grande: Embrapa Pantanal, 2005. p.1-29.
- BELLAVER, C.; COSTA, C. A. F.; MACHADO, H. G. P.; LIMA, G. J. M. M. **Modelo Experimental para Pesquisa e Desenvolvimento de Aditivos Alternativos para Frangos de Corte**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves. 2002. 315.
- BERNFELD, P. Amylases α and β . In: COLOWICK, S.B.; KAPPLAN, N.O. **Methods in enzymology**. New York: Academic Press, 1955, v.1, p.149-153.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA, 2006. 301p.
- BHAT, B. G. & CHANDRASEKHARA, N. Studies on the metabolism of piperine: absorption, tissue, distribution and excretion of urinary conjugates in rats. **Toxicology**, v.40, p. 83-92, 1986.
- BONA, T. M. M.; PICKLER, L.; MIGLINO, L. B.; KURITZA, L. N.; VASCONCELOS, S. P.; SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.5, p.411-418, 2012.
- BONATO, M. A.; SAKOMURA, N. K.; PIVA, G. H.; BARBOSA, N. A. A.; MENDONÇA, M. O.; FERNANDES, J. B. K. Efeito de acidificantes e extratos vegetais sobre o desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais. **ARS Veterinária**, v.24, n.3, p.186-192, 2008.
- BORSA, A. Valores Hematológicos em Frangos de Corte de Criação Industrial **Colloquium Agrariae**, v. 5, n.1, p. 25 – 31, 2009.
- BOTSOGLOU, N. A.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; FLETOURIS, D.J.; SPAIS, A.B. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. **British Poultry Science**, v. 43, p. 223-230, 2002.
- BOZKURT, M.; KÜÇÜKYLMAZ, K.; CATLI, A. U.; ÇINAR, M. Effect of dietary mannan oligosaccharide with or without oregano essential oil and hop extract supplementation on the performance and slaughter characteristics of male broilers. **South African Journal of Animal Science**, v.39, n.3, p.223-232, 2009.
- BRANCO, P. A. C.; SOARES, R.; VIEITES, F.; CABRAL, N.; TAVARES, E. Efeito de óleos essenciais como promotores de crescimento em leitões recém-desmamados. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 231, p.699-706, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51 de 29 de dezembro de 2006, relativo à lista de aditivos antimicrobianos, anticoccidianos e agonistas com uso autorizado na alimentação animal, suas indicações e restrições. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/qualidade-dos-alimentos/aditivos-autorizados>>. Acesso em: 05 de abril de 2011.

BRAVO, D.; UTTERBACK, P. PARSONS, C. M. Evaluation of a mixture of carvacrol, cinnamaldehyde, and capsicum oleoresin for improving growth performance and metabolizable energy in broiler chicks fed corn and soybean meal. **Journal of Applied Poultry Research**, v.20, p.115-120, 2011.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v.158, p. 1-14, 2010.

BRUGALI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: **Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos**, 2003, Campinas. *Anais...* Campinas: Colégio Brasileiro de nutrição animal, p.167-182, 2003.

BRUMANO, G.; GATTÁS, G. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento em dietas de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.6, n.2, p.856-875, 2009.

BUDDLE, J. R.; BOLTON, J. R. The pathophysiology of diarrhea in pigs. **Pigs News Information**, v.13, p.41-45, 1992.

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

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. Estudo dos Parâmetros Hematológicos em Frangos de Corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, n.4, p.419-424, 2003.

CARDOSO, V. S.; LIMA, C. A. R.; LIMA, M. E. F.; DORNELES, L. E. G.; DANELLI, M. G. M. Piperine as a phytogetic additive in broiler diets. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.4, p.489-496, 2012.

CARDOSO, V. S.; LIMA, C. A. R.; LIMA, M. E. F.; DORNELES, L. E. G.; FILHO, W. L. T.; LISBOA, R. S.; JUNIOR, D. S. G.; DIREITO, G. M.; DANELLI, M. G. M. Administração oral de piperina em frangos de corte. **Ciência Rural**, v.39, n.5, p.1521-1526, 2008.

CARRIJO, A. S.; MADEIRA, L. A.; SARTORI, J. R.; PEZZATO, A. C.; GONÇALVES, J. C.; CRUZ, V. C.; KUIBIDA, K. V.; PINHEIRO, D. F. Alho em pó na alimentação alternativa de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.7, p.673-679, 2005.

CEE (Comunidade Econômica Europeia) n.º 1831/2003 do Regulamento de 22 de Setembro de 2003, relativo aos aditivos destinados à alimentação animal. Disponível em: <http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/legisl_en.htm>. Acesso em: 05 de abril de 2011.

CHANG, S.; CHEN, P.; CHANG, S. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.77, p.123-127, 2001.

COLES, E. H. **Patologia Clínica Veterinária**. 3ª edição, Editora Manole, São Paulo, 566p, 1984.

Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. Guia de Ingredientes e Matérias Primas. SINDIRAÇÕES, p. 9-49. 2009.

CORDUK, M.; SARICA, S.; YARIM, G. F. Effects of oregano or red pepper essential oil supplementation to diets for broiler chicks with delayed feeding after hatching. 1. Performance and microbial population. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.22, n.4, p.738-749, 2013.

CROSS, D.E.; SVOBODA, K.; McDEVITT, R.M. et al. The performance of chickens fed diets with and without thyme oil and enzymes. **British Poultry Science**, v.44, p.S18-S19, 2003.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.2, p.389-399, 2012.

DENBOW, D. M. 2000. Gastrointestinal Anatomy and Physiology, In: **Sturkie's Avian Physiology**. 5ª edição. G. C. Whittow, ed. Academic Press. UK. p.299-325.

DIAS, G. E. A.; CARVALHO, B. O.; GOMES, A. V. C.; MEDEIROS, P. T. C.; SOUSA, F. D. R.; SOUZA, M. M. S.; LIMA, C. A. R. Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) na dieta de frangos de corte como equilibrador da microbiota intestinal. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.37, n.1, p.108-114, 2015.

DIAZ-SANCHEZ, S.; D'SOUZA, D.; BISWAS, D.; HANNING, I. Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. **Poultry Science**, v.94, p.1419-1430, 2015.

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

EDENS, F. W. An alternative for antibiotics use in poultry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 75 – 97, 2003.

EL-GHOUSEIN, S. S.; AL-BEITAWI, N. A. The effect of feeding of crushed Thyme (*Thymus vulgaris* L) on growth, blood constituents, gastrointestinal tract and carcass characteristics of broiler chickens. **Japan Poultry Science**, v.46, p.100-104, 2009.

ERTAS, O.N.; GÜLER, T.; ÇIFTÇI, M.; DALKILIÇ, B.; SIMSEK, Ü.G. The effect of an essential oil mix derived from oregano, clove and anise on broiler performance. **International Journal of Poultry Science**, v. 4 n. 11, p. 879-884, 2005.

ESTRELA, J. L. V.; GUEDES, R. N. C.; MALTHA, C. R. A.; FAZOLIN, M. Toxicidade de amidas análogas à piperina a larvas de *Ascia monuste orseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n.2, 2003.

FAIX, Š.; FAIXOVÁ, Z.; PLACHÁ, I.; KOPPEL, J. Effect of *cinnamomum zeylanicum* essential oil on antioxidative status in broiler chickens. **Acta Veterinaria Brno**, v.78, p.411-417, 2009.

FERREIRA, M. V. C.; PAES, V. R.; LICHTENSTEIN, A. Penicilina: oitenta anos. **Revista de Medicina**, v.87, n.4, p.272-276, 2008.

FLEMMING, J. S. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. 2005. 109f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, PR, 2005.

FRANKIC, T.; VOLJC, M.; SALOBIR, J.; REZAR, V. Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. **Acta argiculturae Slovenica**, v.94, n.2, p.95–102, 2009.

FUKAYAMA, E. H.; BERTECHINI, A. G.; GERALDO, A.; KATO, R. K.; MURGAS, L. D. S. Extrato de orégano como aditivo em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2316-2326, 2005.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. **V Simpósio Técnico De Incubação, Matrizes De Corte E Nutrição**, 2004, Balneário de Camboriú. *Anais...* Balneário Camboriú: Embrapa, 2004, p.6-28.

GAIA, J. M. D.; MOTA, M. G. C.; COSTA, M. R.; MARTINS, C. S.; POLTRONIERI, M. C. Análise comparativa de fenogramas gerados por dois coeficientes de similaridade baseados em isoenzimas de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). **Revista Ciência Agrária**, n.42, p.9-23, 2004.

GARCIA, V.; GREGORI, P. C.; HERNANDEZ, F.; MEGIAS, M. D.; MADRID, J. Effect of Formic Acid and Plant Extracts on Growth, Nutrient Digestibility, Intestine Mucosa Morphology, and Meat Yield of Broilers. **Journal Applied Poultry Research**, v. 16, p. 555–562, 2007.

GHOSHAL, S.; KRISHNA, P. B.N.; LAKSHMI, V. Antiamoebic activity of *Piper longum* fruits against entamoeba histolytica in vitro and in vivo. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 50, p. 167-170, 1996.

GIGUÈRE, S.; PRESCOTT, J. F.; BAGGOT, J. D.; WALKER, R. D.; DOWLING, P. M. **Terapia Antimicrobiana em Medicina Veterinária**. 4ª edição, São Paulo: Ed. Roca, 2010. 683p.

GÓMEZ, M. J. M.; SEBASTIÁN, V. V.; CALLE, R. C. **Fitoterapia para las infecciones respiratorias y el asma**. IN: GARCÍA, E. C.; SOLÍS, I. M. Manual de fitoterapia. Elsevier España. p.118, 2007.

GONZALES, E. Ação Pró-nutritiva dos aditivos alimentares. In: **Curso de Fisiologia da Digestão e Metabolismo dos Nutrientes em Aves**. Faculdades de Ciências Agrárias e Veterinária- UNESP, Jaboticabal- São Paulo, 2004, 56 p.

GONZALES, E.; MELLO, H. H. C.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, n.13, p.48-53, 2012.

GUIDOTTI, M. Aditivos fitogênicos na alimentação de aves de produção (Revisão de literatura). Disponível em: <eboofbrowse.com/original-seminario2011-micaela-guidotti-2c-pdf-d306809106>. Acesso em: 10 fev. 2014.

HAESE, D.; SILVA, B. A. N. Antibióticos como promotores de crescimento em monogástricos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, n.1, p.07-19, 2004.

HAN, Z. **Enzymes in Poultry and Swine Nutrition**. Canadá: IDRC, 1997. p.53-62.

HARTREE, E. F. Determination of protein: a modification of the lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, v.48, n.2, p.422-427, 1972.

HASHEMIPOUR, H.; KERMANSHASHI, H.; GOLIAN, A.; VELDKAMP, T. Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. **Poultry Science**, v.92, p.2059–2069, 2013.

HERMES, R. G.; GARCEZ, D. C.; PRATA, M. F. Óleos Essenciais e sua Interação com outros Aditivos Alternativos ao Uso de Antibióticos Promotores de Crescimento. In: **Congresso sobre Aditivos na Alimentação Animal**, II, 2012, Campinas. *Anais...* CBNA, 2012.

HERNÁNDEZ, F.; MADRID, J.; GARCÍA, V.; ORENGO, J.; MEGÍAS, M.D. Influence of the plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, v.83, p.169-174, 2004.

HUYGHEBAERT, G. Alternatives for antibiotics in poultry. In: Mid-atlantic NUTRITION CONFERENCE, 2005, Maryland. **Proceedings...** Maryland: Maryland feed industry council, 2005. p.38-57.

IKAN, R. **In Natural Products**. A Laboratory Guide. 2ª. edição. New York Academic Press., p. 233-238, 1991.

JAIN, N. C. **Essential of Veterinary Hematology**, Lea & Febiger: Philadelphia, 1993, 417 p.

JAMROZ, D.; WERTELECKI, T.; HOUSZKA, M.; KAMEL, C. Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. V.5, n.6, p.255-268, 2006.

JANG, I. S., KO, Y. H., KANG, S. Y., LEE, C. Y. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**. v.134, p.304- 315, 2007.

JEURISSEN, S. H.; LEWIS, F.; VAN DER KLIS, J.D. MROZ, Z.; REBEL, J. M.; TER HUURNE, A. A. Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity and functionality. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v.3, p.1-14, 2002.

KAKADE, M. L.; RACKIS, J. J.; MCGHEE, J. G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, v. 51, p. 376-382, 1974.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. **The International Journal on Feed, Nutrition and Technology**, v.9, n.6, p.19-24, 2000.

KARAN, R. S.; BHARGAVA, V. K.; GARG, S. K. Effect of trikatu, an Ayrvedic prescription on the pharmacokinetic profile of rifampicin in rabbits. **Journal. Ethnopharmacological**. v. 64, p.259-264, 1999.

KIRKPINAR, F.; BORA ÜNLÜ, H.; ÖZDEMİR, G. Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. **Livestock Science**, v.137, p.219-225, 2010.

KOYAMA, N. T. G.; ROSA, A. P.; PADILHA, M. T. S.; BOEMO, L. S.; SCHER, A.; MELO, A. M. S.; FERNANDES, M. O. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.3, p.225-231, 2014.

LABUZA, T. P.; HEIDELBA, N. D.; SILVER, M.; KAREL, M. Oxidation at intermediate moisture contents. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.48, n.2, p.86-89, 1971.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J.; NYCHAS, G. -J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.453-462, 2001.

LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: A visão da indústria e recentes avanços. In: **Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas**, 2005, Santos. *Anais...* Santos: APINCO, 2005. p.21-33.

LEE, K. W.; EVERTS, H.; BEYNEN, A. C. Essential oils in broiler nutrition. **International Journal of Poultry Science** v.3, p.738-752, 2004.

LEE, K. W.; EVERTS, H.; KAPPERT, H. J.; FREHNER, M.; LOSA, R.; BEYNEN, A. C. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. **British Poultry Science**, v.44, n.3, p.450-457, 2003.

LEE, S. H.; LILLIEHOJ, H. S.; HONG, Y. H.; JANG, S. I.; LILLEHOJ, E. P.; IONESCU, C.; MAZURANOK, L.; BRAVO, D. In vitro effects of plant and mushroom extracts on immunological function of chicken lymphocytes and macrophages. **British Poultry Science**, v.51, n.2, p.213-221, 2010.

LEITE, P. R. S. C.; MENDES, F. R.; PEREIRA, M. L. R.; LIMA, H. J. D.; LACERDA, M. J. R. Aditivos fitogênicos em ração de frangos. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15, p.9-26, 2012.

LEVIC, J.; SREDANOVIC, S.; DURAGIC, O.; JAKIC, D.; LEVIC, L. J.; PAVKOV, S. New feed additives based on phytogenics and acidifiers in animal nutrition. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v.23, n.5, p.527-534, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: exóticas e cultivadas**. 2. ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. 364 p.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v.193, n.1, p.265-275, 1951.

- LU, J.; IDRIS, U.; HARMON, B.; HOFACRE, C.; MAURER, J. J.; LEE, M. D. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 11, p.6816–6824, 2003.
- MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375 P.
- MACCARTNEY, E. O banimento de antibióticos promotores de crescimento na UE – implicações globais para a nutrição animal. In: **IX Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, 2008, Chapecó. *Anais...* Chapecó: Embrapa, 2008, p. 13-33.
- MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. In: **V Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, 2004, Chapecó. *Anais...* Chapecó:Embrapa, 2004, p.26-41.
- MALINI, T.; MANIMARAN, R. R.; ARUNAKARAN, J.; ARULDHAS, M. M.; GOVINDARAJULU, P. Effects of piperine on testis of albino rats. **Journal Ethnopharmacology**, v.64, p.218-225, 1999.
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV - Imprensa Universitária, 1995. 220 p.
- MAST, J.; GODDEERIS, B. M. Development of immunocompetence of broiler chickens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.70, p.245-256, 1999.
- MATTERSON, L.D.; POTTER, L.M.; STUTZ, N.W.; SINGSEN, E.P. **The metabolizable energy feed ingredients for chickens**. Storrs: University of Connecticut, 1965. 11p.
- MAXWELL, M. H.; ROBERTSON, G. W.; MCCORQUODALE, C. C. Whole blood and plasma viscosity in normal and ascitic broiler chickens. **British Poultry Science**, v.33, p.871-877, 1992.
- MELLOR, S. Alternatives to antibiotics. *Pig Progress*, v.16, p.18-21, 2000
- MENDES, F. R.; LEITE, P. R. S. C.; FERREIRA, L. L.; LACERDA, M. J. R.; ANDRADE, M. A. Utilização de antimicrobianos na avicultura. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 10, n.2, p. 2352-2389, 2013.
- MENEZES, E. A.; SOARES, K. P.; NASCIMENTO, K. M.; AMORIM, L. N.; NETO, J. G. L.; CUNHA, F. A.; Macrolídeos: uma atualização. **NewsLab**, v.85, 2007.
- MENTEN, J. F. M.; LONGO, F. A.; VIOLA, E. S.; RIZZO, P. V. Antibióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais na nutrição de monogástricos. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. P.511-535.
- MISHRA, P. K. Phytobiotics: an Alternative to Antibiotic Growth Promoters, 2014. Disponível em: <<https://en.engormix.com/MA-poultry-industry/nutrition/articles/phytobiotics-alternative-antibiotics-growth-t3185/141-p0.htm>>. Acesso em: 22 de novembro de 2015.
- MITTAL, R.; GUPTA, R. L. In vitro antioxidant activity of piperine. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacological**, v. 122, p. 163-167, 2000.

MOUNTZOURIS, K. C.; PARASKEVAS, V.; TSIRTSIKOS, P.; PALAMIDI, I.; SCHATZMAYR, G.; FEGEROS, K. Assessment of a phytogenic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. **Animal Feed Science and Technology**, v.168, p.223-231, 2011.

MORGULIS, M.S. Imunologia aplicada. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Eds.). **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375p.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 7ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014, 888p.

MUSTAFA, A.; EL-MEDANY, A.; HAGAR, H. H.; EL-MEDANY, G. Ginkgo biloba attenuates mucosal damage in a rat model of ulcerative colitis. **Pharmacological Research**, v.53, p.324-330, 2006.

NAJAFI, S.; TAHERPOUR, K. Effects of dietary ginger (Zingiber officinale), cinnamon (Cinnamomum), symbiotic and antibiotic supplementation on performance of broilers. **Journal of Animal Science Advances**, v.4, n.1, p.658-667, 2014.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 31, p. 247-256, 2000.

OLIVEIRA, R. A. G. de; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.16, n.1, p. 77-82, 2006.

OVIEDO-RONDÓN, E.O.; CLEMENTE-HERNÁNDEZ, S.; SALVADOR, F.; WILLIAMS, P.; LOSA, R. Essential oils on mixed coccidian vaccination and infection in broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 8, p. 723-730, 2006.

PEDROSO, A. A. Microbiota do trato digestório: transição do embrião ao abate. In: **Conferência Apinco Facta**, 2011, Santos. *Anais...* Santos, 2011, p. 123- 130.

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; FIGUEIREDO, D. F.; BOIAGO, M. M; CARVALHO, S. R.; BORDON, V. F. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.7, n.4, p.221-229, 2005.

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; OBA, A.; NORKUS, E. A.; KODAWARA, L. M.; LIMA, T. M. A. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.98, n.547, p.125-134, 2003.

PENZ, A.M.; BRUNO, D.G; SILVANA, T.; RENATA FUJI, R. Uso de Aditivos Antimicrobianos na Alimentação Animal - Controle, Restrição e Tendências. In: **Avisulat**. São Bento, RS. 2008.

PEREIRA, G. M. **Análise dialética e pungência dos frutos em capsicum chinense**. 2007. Tese (Doutorado). 64f. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

PETROLI, T. G.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; TAVERNARI, F. C.; BALBINOI, E. M. Herbal extracts in diets for broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.7, p.1683-1690, 2012.

PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Influence of dietary spices or their active principles on digestive enzymes of small intestinal mucosa in rats. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.47, p.55-59, 1996.

PULICI, P. M. M.; BURBARELLI, M. F. C.; POLYCARPO, G. V.; RIBEIRO, P. A. P.; CARÃO, A. C. P.; MERSEGUEL, C. E. B.; PULICI, R. P.; ALBUQUERQUE, R. Uso de óleo essencial de orégano, salinomicina e bacitracina de zinco na dieta de frangos de corte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.51, n.2, p.131-135, 2014.

PUVACA, N.; STANACEV, V.; GLAMOCIC, D.; LEVIC, J.; PERIC, L.; STANACEV, V.; MILIC, D. Beneficial effects of phytoadditives in broiler nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v.69, p.27-34, 2013.

RIZZO, P. V.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; TRALDI, A. B.; SILVA, C. S.; PEREIRA, P. W. Z. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.801-807, 2010.

RIZZO, P. V.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; SANTAROSA, J. Foundation and perspectives of the use of plant extracts as performance enhancers in broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 10, n. 4, p. 195-204, 2008.

ROLL, V. F. B.; LOPES, L. L.; ROSSI, P.; ANCIUTI, M. A.; RUTZ, F.; XAVIER, E. G.; SILVA, S. S. Hematologia de frangos alimentados com dietas contendo aflatoxinas e adsorventes de toxinas. **Archivos de Zootecnia**, v.59, n.225, p.93-101, 2010.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3ª ed. Viçosa, Minas Gerais – Brasil, 2011. 252p.

SANTANA, E. S.; MENDES, F. R.; BARNABÉ, A. C. S.; OLIVEIRA, F. H.; ANDRADE, M. A. Uso de produtos alternativos aos antimicrobianos na avicultura. **Enciclopédia Biosfera**, v.7, n.13, p.985-1009, 2011.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHINI, P. R.; ALVES, S.H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola, **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.803-808, 2007.

SAVAGE, D. C. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. **Annual Veterinary Microbiology**, n.31, p.107-133, 1977.

SCHNEIDER, B. A.; FLAT, W. P. **The eval of feeds through digest exper**. Athens: The University of Georgia, 1975, 423 p.

SCHEUERMANN, G. N.; CUNHA JUNIOR, A.; CYPRIANO, L.; GABBI, A. M. Aditivo fitogênico como alternativa aos promotores de crescimento em frangos de corte. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.522 – 527, 2009.

STRYER, L. **Biochemistry**. 3ª edição. New York: W. H. Freeman and Company, 1988. 1089p.

- SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILLO, A. C. Patologia Clínica em Aves de Produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v 12, n.3. p.9-20, 2007.
- SILVA, M. A.; PESSOTI, B. M. S.; ZANINI, S. F.; COLNAGO, G. L.; NUNES, L. C.; RODRIGUES, M. R. A.; FERREIRA, L. Óleo essencial de aroeira-vermelha como aditivo na ração de frangos de corte. **Ciência Rural**, v.41, n.4, p.676-681, 2011.
- SILVA, M. A.; PESSOTTI, B. M. S.; ZANINI, S. F.; COLNAGO, G. L.; RODRIGUES, M. R. A.; NUNES, L. C.; ZANINI, M. S.; MARTINS, I. V. F. Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with *Eimeria tenella* and treated with essential oil of oregano. **Ciência Rural**, v.39, n.5, p.1471-1477, 2009.
- SIMSEK, U. G.; CIFTCI, M.; DALKILIC, B.; GULER, T.; ERTAS, O. N. The effects of dietary antibiotic and anise oil supplementation on body weight, carcass characteristics and organoleptic analysis of meat in broilers. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.158, n.10, p.514-518, 2007.
- SIMSEK, U. G.; ÇIFTÇI, M.; GOGAN, G.; OZÇELIK, M. Antioxidante activity of cinnamon bark oil (*Cinnamomum zeylanicum* L.) in Japanese quails under thermos neutral and heat stressed conditions. **Journal of the Faculty of Veterinary Medicine**, v.19, n.5, p.889-894, 2013.
- SIVROPOULOU, A.; PAPANIKOLAOU, E.; NIKOLAOU, C.; KOKKINI, S.; LANARAS, T.; ARSENAKIS, M. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 5, p. 1202-1205, 1996.
- SOUMYA, S. L.; NAIR, B. R. Antifungal efficacy of *Capsicum frutescens* L. extracts against some prevalent fungal strains associated with groundnut storage. **Journal of Agricultural Technology**, v.8, p.739-750, 2012.
- SURAI, P. F. Selenium in poultry nutrition 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. **World's Poultry Science Journal**, v.58, n.3, p.333-347, 2002.
- TESSARI, E. N. C.; OLIVEIRA, C. A. F.; CARDOSO, A. L. S. P.; LEDOUX, D. R.; ROTTINGHAUS, G. Parâmetros hematológicos de frangos de corte alimentados com ração contendo aflatoxina B1 e fumonisina B1. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p.924-929, 2006.
- TOGHYANI, M.; GHEISARI, A.; GHALAMKARI, G.; EGHBALESAIED, S. Evaluation of cinnamon and garlic as antibiotic growth promoter substitutions on performance, immune responses, serum biochemical and haematological parameters in broiler chicks. **Livestock Science**, v.138, p.167-173, 2011.
- TOGHYANI, M.; TOHIDI, M.; GHEISARI, A. A.; TABEIDIAN, S. A. Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. **African Journal of Biotechnology**, v.9, n.40, p.6819-6825, 2010.
- TOLEDO, G. S. P.; COSTA, P. T. C.; SILVA, L. P.; PINTO, DANIEL.; FERREIRA, P.; POLETTTO, C. J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1760-1764, 2007.

TONY, M. A.; ABDELHADI, A.; FAYED, R. H. Influence of some natural plants as feed additives on health and growth performance of broiler chickens. 2006. Disponível em: <http://scholar.cu.edu.eg/?q=rhfayed/files/influence_of_some_natural_plants_as_feed_additives.pdf>. Acesso em: 16 de janeiro de 2016.

TRAESEL, C. K.; LOPES, S. T. A.; WOLKMER, P.; SCHMIDT, CANDICE; SANTURIO, J. M.; ALVES, S. H. Óleos essenciais como substituintes de antibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 2, p. 278-284, 2011.

UTIYAMA, C. E.; OETTING, L. L.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. S.; MIYADA, V. S. Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2359-2367, 2006.

UTIYAMA, C. E. **Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores do crescimento de leitões recém-desmamados**. 2004. 94p. Tese (doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP, 2004.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.36, n.4, p.1097-1104, 2007.

VIRINDER, S. P.; SUBASH, C. J.; KIRPAL, S. B.; RAJANI, J. Phytochemistry of genus Piper. **Phytochemistry**, v. 46, p. 597-673, 1997.

WALDENSTEDT, L. Effect of vaccination against coccidiosis in combination with an antibacterial oregano (*Origanum vulgare*) compound in organic broiler production. **Acta Agriculture Scandinavica**, v. 53, p. 101-109, 2003.

WINDISCH, W.; SCHEDULE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAYR, A. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, v.86, p.140-148, 2008.

WITKOWSKA, D.; SOWINSKA, J. The effectiveness of peppermint and thyme essential oil mist in reducing bacterial contamination in broiler houses. **Poultry Science**, v.92, p.2834-2843, 2013.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The medical impact of antimicrobial use in farm animals**. WHO/EMC/ZOO/97.4. Germany, 1997. p.1-24.

WOJDYLO, A.; OSMIANSKI, J.; CZEMERYYS, R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chemistry**, v.105, n.3, p.940-949, 2007.

YOUNG, J. F.; STAGSTED, J.; JENSEN, S. K.; KARLSSON, A. H.; HENCKEL, P. Ascorbic acid, α -tocopherol and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. **Poultry Science**, n.82, p.1343-1351, 2003.

ZHANG, G. F.; YANG, Z.B.; WANG, Y.; YANG, W. R.; JIANG, S. Z.; GAI, G. S. Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) processed to different particle sizes on growth performance, antioxidant status, and serum metabolites of broiler chickens. **Poultry Science**, v.88, p.2159-2166, 2009.