

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera* spp.) COMO ADITIVO NA
DIETA DE BOVINOS: CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E
FERMENTAÇÃO RUMINAL**

Anderson Luiz De Lucca Bento

**CAMPO GRANDE, MS
2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera* spp.) COMO ADITIVO NA
DIETA DE BOVINOS: CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E
FERMENTAÇÃO RUMINAL**

Copaiba oil (*Copaifera* spp.) as additive in steers diet: intake, digestibility and rumen fermentation

Anderson Luiz De Lucca Bento

Orientador: Prof. Dr. Gumerindo Lorian Franco

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de Mestre em Ciência Animal.
Área de concentração: Produção
Animal.

**CAMPO GRANDE, MS
2016**

Dedicatória

A minha família, namorada, amigos e todos que contribuíram para minha formação e execução deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À minha família pelos ensinamentos, por priorizarem minha educação e compreensão pelos dias ausentes;

Aos meus pais Lizabete Coutinho de Lucca e Antônio Siverino Bento pelo incentivo em ingressar na Graduação em Zootecnia e Mestrado em Ciência Animal e pelo apoio incondicional ao longo desse processo;

À minha namorada Raizza Fátima Abadía Tulux Rocha pelo auxílio nas diversas atividades, madrugadas, feriados e finais de semana despendidos na execução desse projeto, pela paciência nos momentos difíceis e por me proporcionar muitas alegrias nesses anos que passamos juntos;

Ao professor Dr. Gumercindo Loriani Franco pelo exemplo de conduta profissional, pela orientação prestada, amizade e conhecimentos transmitidos ao longo destes anos, minha profunda gratidão;

Aos professores Dra. Maria da Graça Moraes e Dr. Luis Carlos Vinhas Ítavo pela valiosa contribuição, pela disponibilidade e prontidão em ajudar, sendo de fundamental importância para a qualidade desse trabalho; e pela participação dos membros da banca examinadora de defesa, professor Dr. Henrique Jorge Fernandes e a pesquisadora Dra. Simone da Silva Ribeiro.

Aos meus colegas de pós-graduação Claudilene Lima de Abreu, Gabriella de Oliveira Dalla Martha, Ibrahim Miranda Cortada Neto, João Artêmio Marin Beltrame, Marcella Cândia D'Oliveira e Marcelo Vedovatto pela ajuda na condução do experimento, pelas discussões que contribuíram para o enriquecimento da minha formação e pela amizade, meus sinceros agradecimentos;

Aos amigos de longa data Alberto de Oliveira Gaspar, Henrique Barbosa de Freitas, Jonathan Coimbra Carvalho, e Stephan Alexander da Silva Alencar pelo companheirismo, amizade sincera e troca de experiências ao longo do período de convivência;

Aos amigos Caroline Bertoline Ribeiro, Waldinei Caballero, Erico Carneiro e Mayara Mitiko Yoshihara Carneiro pelo auxílio no experimento, pela amizade e companheirismo.

Aos estagiários pela amizade, auxílio prestado, proatividade e comprometimento, fundamentais para a execução das diferentes etapas desse experimento;

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e os docentes deste curso pelas oportunidades oferecidas e aprendizagem conseguida;

À Fundação de apoio ao desenvolvimento do ensino, ciência e tecnologia do estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela concessão de bolsa de estudos, que possibilitou a dedicação exclusiva ao curso de mestrado;

Aos servidores da FAMEZ, em especial ao Sr. Antônio Straviz e à química MSc. Adriana Garabini, técnicos do Laboratório de Nutrição Animal e ao Ricardo Oliveira do setor de Pós-graduação pela amizade e contribuição;

À todos não mencionados diretamente nessa seção que fizeram parte dessa etapa da minha caminhada, muito obrigado.

Resumo

BENTO, A.L.L. Óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) como aditivo na dieta de bovinos: consumo, digestibilidade e fermentação ruminal. 2016. 47 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2016.

Objetivou-se avaliar o efeito do fornecimento de óleo de copaíba ou monensina sódica como aditivos nutricionais para bovinos recebendo suplemento concentrado sobre o consumo voluntário, digestibilidade dos nutrientes, degradabilidade ruminal e variáveis ruminais. Foram utilizados cinco novilhos cruzados providos de cânula permanente no rúmen. O delineamento experimental foi o quadrado latino (5x5), com 14 dias de adaptação e sete dias de colheita de dados. Os animais receberam dieta a base de feno de capim Massai e suplementação proteico/energética de 15 g kg⁻¹ PC (peso corporal) com os tratamentos experimentais: Controle – sem uso de aditivos, COP1,25; COP2,50 e COP3,75 – adição de 1,25, 2,50 e 3,75 g kg⁻¹ de MS da dieta de óleo copaíba, respectivamente e Monensina – adição de 40 mg kg⁻¹ MS da dieta de monensina sódica. Não foi observado efeito do fornecimento do óleo de copaíba sobre o consumo e digestibilidade aparente da MS e dos nutrientes, com redução de 11,9% no consumo de MS no tratamento contendo monensina sódica comparativamente ao controle. As variáveis de degradação da MS e FDN não foram influenciadas pelo fornecimento de óleo de copaíba, que apresentou degradação efetiva (DE) da MS superior a observada com o fornecimento de monensina sódica, com médias de 51,02, 48,81, 50,0, 49,47 e 43,82 g 100 g⁻¹ para os tratamentos controle, COP1,25, COP2,50, COP3,75 e Monensina, respectivamente. O fornecimento de óleo de copaíba não influenciou o pH e N-NH₃ ruminal. O óleo de copaíba, quando fornecido nas quantidades de 1,25 a 3,75 g kg⁻¹ de MS, em dietas com relação volumoso:concentrado próxima a 50:50, sendo o volumoso de baixa qualidade, não apresenta efeito sobre as variáveis estudadas.

Palavras-chave: degradabilidade, nitrogênio amoniacal, metabólitos secundários, óleos essenciais, pH, ruminantes

Abstract

BENTO, A.L.L. Copaiba oil (*Copaifera* spp.) as additive in steers diet: intake, digestibility and rumen fermentation. 2016. 47 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2016.

The objective was to evaluate the effect of providing copaiba oil or sodium monensin as nutritional additives to steers receiving concentrate supplementation over their voluntary intake, nutrient digestibility, ruminal disappearance and ruminal variables. Five crossbred steers fitted with permanent cannula in the rumen were used. It was used a Latin Square design (5x5), with each period consisting of 14 adaptation days and seven days of data collection. Animals were fed a base diet of *Panicum maximum* cv. Massai hay and protein/energy supplementation at 15 g kg⁻¹ of body weight with one of the experimental treatments: Control – without additives inclusion, COP1.25, COP2.50 and COP3.75 - addition of 1.25, 2.50 and 3.75 g kg⁻¹ DM of copaiba oleoresin, respectively and Monensin – addition of 40 mg kg⁻¹ DM of sodium monensin. There was no effect of copaiba oil supplementation on intake and apparent digestibility of DM and nutrients, with decrease of 11.9% on dry matter intake when sodium monensin was provided. DM and NDF degradation variables were not affected by copaiba oil supplementation, which presented effective DM degradation higher than that observed with sodium monensin, being 51.02, 48.81, 50.00, 49.47 and 43.82 g 100 g⁻¹ for Control, COP1.25, COP2.50, COP3.75 and Monensin treatments, respectively. There was no influence of copaiba oil over ruminal pH and N-NH₃. Copaiba oil, when provided in amounts between 1.25 and 3.75 g kg⁻¹ of DM in diets with roughage:concentrate ratio near 50:50, being low quality roughage, has no effect into the studied variables.

Keywords: ammoniacal nitrogen, degradability, essential oils, pH, ruminants, secondary metabolites

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de Literatura

Figura 1 – Fórmula estrutural do isopreno (metil-buta-1,3dieno) (Adaptado de Lichtenthaler, 1999).....	7
Figura 2 – Principais monoterpenos (A), sesquiterpenos (B) e fenilpropanóides (C) dos óleos essenciais (Adaptado de Calsamiglia et al., 2007).....	8
Figura 3 – Visão esquemática dos sítios e mecanismos de ação dos óleos essenciais na célula bacteriana (Adaptado de Benchaar et al., 2007).....	9
Figura 4 – Visão esquemática do mecanismo de ação do carvacrol (Adaptado de Ultee et al., 2002).....	10
Figura 5 – Principais sesquiterpenos detectados no óleo de copaíba (Leandro et al., 2012).....	15
Figura 6 – Principais diterpenos detectados no óleo de copaíba (Leandro et al., 2012).	16
 Artigo - Óleo de copaíba (<i>Copaifera</i> spp.) como aditivo na dieta de bovinos: consumo, digestibilidade e fermentação ruminal	
Figura 1 – Degradação da MS do feno ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) no rúmen de bovinos recebendo diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica.....	45
Figura 2 – Degradação da FDN do feno ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) no rúmen de bovinos recebendo diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica.....	46
Figura 3 - Média dos valores de pH no rúmen de bovinos em diferentes horários de coleta recebendo diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica.....	48
Figura 4 - Média dos valores de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) no rúmen de bovinos em diferentes horários de coleta recebendo diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica.....	49

LISTA DE TABELAS

Artigo - Óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) como aditivo na dieta de bovinos: consumo, digestibilidade e fermentação ruminal

Tabela 1 – Composição bromatológica do suplemento concentrado e do feno de <i>Panicum Maximum</i> cv. Massai.....	43
Tabela 2 – Efeito do fornecimento de diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica sobre o consumo (kg d^{-1} e g kg^{-1} PC).....	44
Tabela 3 - Efeito do fornecimento de diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (g kg^{-1}).....	45
Tabela 4 - Efeito do fornecimento de diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica sobre os parâmetros de degradação da MS e FDN do feno de capim Massai.....	47

SUMÁRIO

Revisão de Literatura

INTRODUÇÃO.....	5
1 Definição e caracterização química dos óleos essenciais.....	6
2 Mecanismos de ação dos óleos essenciais.....	8
3 Histórico dos óleos essenciais na nutrição de ruminantes.....	12
4 Histórico do uso do óleo de copaíba.....	13
REFERÊNCIAS.....	18

Artigo - Óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) como aditivo na dieta de bovinos: consumo, digestibilidade e fermentação ruminal

Resumo.....	23
Abstract.....	24
Introdução.....	25
Material e Métodos.....	26
Resultados e Discussão.....	31
Conclusões.....	39
Referências.....	40
Tabelas e Figuras.....	43

1 INTRODUÇÃO

2
3 A manipulação da fermentação ruminal por meio de substâncias introduzidas na ração
4 ou que estejam naturalmente presentes nos alimentos, possibilita aumentar a eficiência de
5 utilização das dietas ingeridas pelos ruminantes, permitindo melhor aproveitamento dos
6 nutrientes e sua conversão em produtos comercializáveis, além de reduzir o impacto dos
7 sistemas de produção sobre o meio ambiente.

8 Antibióticos são comumente utilizados na produção animal com a finalidade de
9 melhorar o aproveitamento das dietas pelos animais e prevenir a ocorrência de distúrbios
10 metabólicos. Todavia, apesar dos efeitos positivos dos antibióticos e ionóforos como aditivos
11 nutricionais sobre a saúde e a produtividade animal, sua utilização tem se tornado controversa,
12 com um aumento na pressão da população para restringir o seu uso de forma generalizada na
13 alimentação animal (Benchaar et al., 2007).

14 Baseado no princípio da precaução, através do regulamento nº 1831/2003, a utilização
15 de ionóforos e antibióticos promotores do crescimento como aditivos na dieta de ruminantes
16 foi proibida pela União Europeia em 2006, levando a um maior interesse na identificação de
17 produtos com componentes naturais que possam ser utilizados como manipuladores da
18 fermentação ruminal em substituição ao uso de ionóforos (Fereli et al., 2010).

19 Os principais aditivos testados atualmente com o objetivo de melhorar a eficiência dos
20 animais ruminantes são os ácidos orgânicos, os ácidos graxos, as leveduras, a própolis e os
21 extratos naturais de plantas que são representados pelas saponinas, taninos e óleos essenciais.

22 Os óleos essenciais têm sido descritos mais frequentemente pela alteração da
23 microbiota ruminal, reduzindo as populações de bactérias gram-positivas, com algumas
24 consequências como: menor produção de amônia no rúmen (devido à redução da proteólise e
25 da deaminação de aminoácidos) aumentando o escape ruminal de proteína e aminoácidos para
26 o intestino, redução da metanogênese e alteração da proporção dos ácidos graxos voláteis
27 produzidos no rúmen (Marino et al., 2001).

28 O óleo de copaíba é um produto natural retirado da Copaíba (*Copaifera* spp.), árvore
29 que está amplamente distribuída na região amazônica e Centro-Oeste do Brasil e possui suas
30 propriedades farmacológicas conhecidas desde os primeiros anos do “descobrimento” (Veiga
31 Junior & Pinto, 2002).

32 Essa espécie tem sido utilizada de forma abrangente, com diversos estudos
33 comprovando suas propriedades antibióticas e anti-inflamatórias (Leandro et al., 2012; Pieri et
34 al., 2012; Santos et al., 2008). As propriedades do óleo de copaíba vem sendo amplamente

estudadas com ênfase na saúde humana e animal, bem como na indústria de cosméticos, todavia, seu potencial de uso como aditivo nutricional, principalmente na manipulação do ambiente ruminal, ainda não é bem conhecido.

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da inclusão de diferentes níveis de óleo de copaíba sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes e variáveis ruminais de bovinos estabulados, recebendo suplementação concentrada.

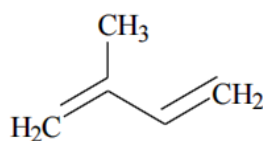
1. Definição e caracterização química dos óleos essenciais

Diversas plantas produzem compostos secundários, como os flavonoides, saponinas, taninos e óleos essenciais, constituindo substâncias que não apresentam funções relacionadas aos processos bioquímicos primários dos vegetais. Estes metabólitos são responsáveis pelas diferenciações de cor e cheiro característicos de cada espécie, tendo importância ecológica como mensageiros químicos entre a planta e o seu meio, atuando também na proteção contra o ataque de fungos, bactérias, insetos e herbívoros (Gershenzon & Croteau, 1991).

Os óleos essenciais são substâncias hidrofóbicas que contêm compostos aromáticos voláteis das plantas, sendo conhecidos também como óleos voláteis ou etéreos. Esses óleos não são compostos simples, mas uma rica mistura de diversos compostos como terpenos, álcoois, acetonas, fenóis, ácidos, aldeídos e ésteres, sendo sua amplamente variável em função da fonte do óleo essencial (Giannenas et al., 2013).

Essas substâncias são extraídas de diferentes partes das plantas, como flores, brotos, sementes, folhas, ramos verdes, casca, madeira, frutas e raízes, com a utilização de solventes orgânicos, como etanol, metanol e tolueno, ou por destilação com vapor d'água (Miguel, 2010).

O termo essencial deriva de essência, estando associado às propriedades destas substâncias em fornecer sabores e odores característicos a diferentes espécies de plantas. Seus compostos mais importantes estão divididos em dois grupos químicos, os terpenóides (terpenos que possuem oxigênio como elemento adicional) e os fenilpropanóides. Os terpenóides constituem um grupo variado de substâncias que possuem como precursor básico uma molécula de cinco carbonos (C_5H_8) denominada isopreno (Figura 1), sendo classificados de acordo com o número de moléculas de isopreno em sua estrutura. Monoterpenos são formados por duas unidades de isopreno (C_{10}), sesquiterpenos são formados por três unidades de isopreno (C_{15}) e diterpenos por quatro unidades (C_{20}), com os maiores terpenos (politerpenos) apresentando cadeias com mais de oito unidades de isopreno (Calsamiglia et al., 2007).



isopreno

Figura 1 – Fórmula estrutural do isopreno (metil-buta-1,3 dieno) (Adaptado de Lichtenthaler, 1999)

Os fenilpropanóides são compostos por unidades básicas de fenilpropil (C₆C₃), que são formados por um anel aromático de seis carbonos com uma cadeia de três carbonos ligada a ele, sendo estes derivados dos esqueletos de carbono dos aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina, sintetizados pela via do ácido chiquímico, funcional apenas em microrganismos e plantas (Sangwan et al., 2001).

De forma geral, os principais componentes característicos dos óleos essenciais são os monoterpenos, sesquiterpenos e outros compostos sem características de terpenos (intermediários de terpenos e fenilpropenos), enquanto outros terpenos são componentes de resinas, ceras, borrachas e bálsamos (Máthé, 2009). A Figura 2 ilustra a fórmula estrutural de alguns componentes de óleos essenciais.

Em termos de sua atividade biológica, cada componente dos óleos essenciais apresenta propriedades diferentes, o que dá a eles uma característica complexa, com efeitos bastante diversificados em função da concentração de seus diferentes componentes. Além da diferença na composição dos óleos em diferentes plantas das quais pode ser extraído, pode haver grande variação em função do local da planta do qual é extraído ou mesmo em óleos extraídos do mesmo local em plantas submetidas a diferentes condições de cultivo. A composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, contudo, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente no qual se encontram. Desse modo, estímulos decorrentes do ambiente, podem influenciar as rotas metabólicas, levando a biossíntese de compostos diferentes, destacando-se as interações entre planta e microrganismos, planta e insetos, e planta e planta, idade e estágio de desenvolvimento, e fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós colheita (Morais, 2009).

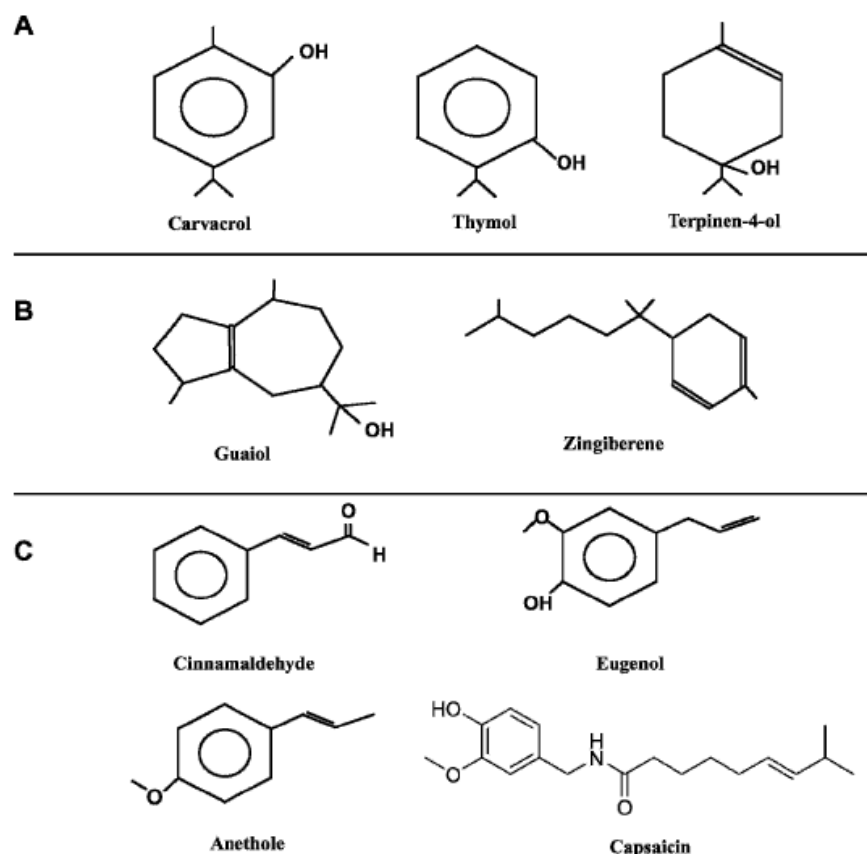


Figura 2 – Principais monoterpênos (A), sesquiterpênos (B) e fenilpropanóides (C) dos óleos essenciais (Adaptado de Calsamiglia et al., 2007)

2. Mecanismos de ação dos óleos essenciais

Os óleos essenciais e os metabólitos secundários que os compõem frequentemente apresentam atividade antimicrobiana. Como os óleos essenciais são uma mistura de diferentes metabólitos secundários é de se esperar que diferentes mecanismos de ação sejam empregados, podendo haver uma atuação sinérgica entre os diferentes compostos encontrados nos óleos, de forma a proporcionar efeitos aditivos ou mesmo antagônicos entre os seus mecanismos de ação (Burt, 2004).

A atividade antimicrobiana parece depender diretamente do caráter hidrofóbico dos óleos essenciais, que permite a eles interagir com a bicamada lipídica da membrana celular dos microrganismos, de onde passam a exercer seus efeitos, que podem variar de acordo com o metabólito presente e envolvem a alteração da permeabilidade da membrana plasmática de diferentes formas ou a sua difusão para o citoplasma microbiano. Os possíveis mecanismos de ação dos óleos essenciais sobre a célula microbiana estão esquematizados na Figura 3.

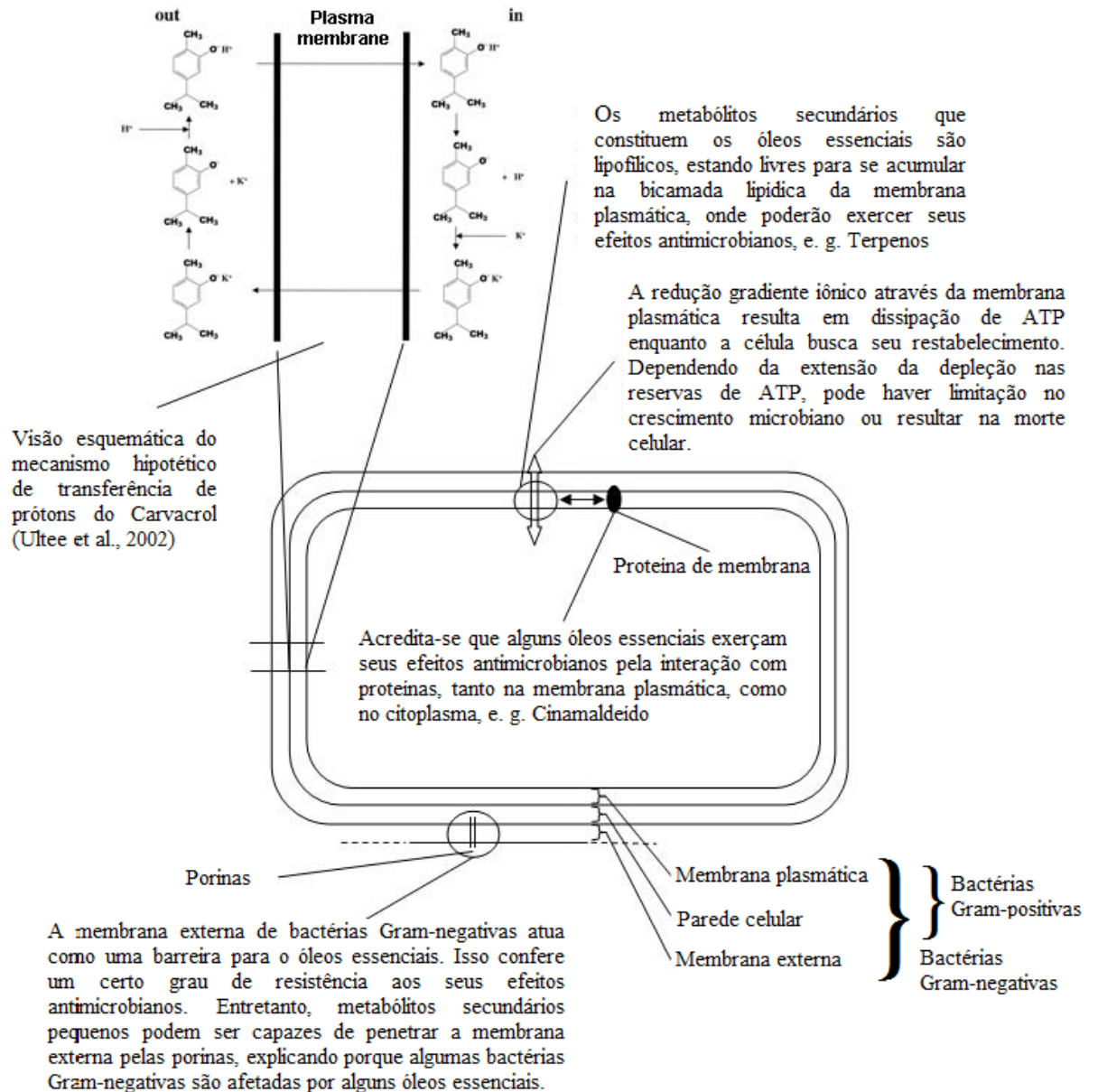


Figura 3 – Visão esquemática dos sítios e mecanismos de ação dos óleos essenciais na célula bacteriana (Adaptado de Benchaar et al., 2007)

De forma geral, dos metabólitos encontrados nos óleos essenciais, é geralmente aceito que os compostos fenólicos (compostos com um grupo hidroxila (-OH) ligado a um anel fenil) são os que apresentam maior atividade antimicrobiana. Isso ocorre porque o grupo hidroxila, além de estar envolvido no transporte de íons pela membrana plasmática bacteriana, provavelmente também atua na inativação de enzimas microbianas (Burt, 2004).

O grupo hidroxila dos compostos secundários pode desempenhar um importante papel na redução de pH e do gradiente iônico existente entre o meio extracelular e o citoplasma da célula microbiana, sendo sua presença essencial para a atividade antimicrobiana desses

compostos, tendo em vista sua ação como translocador de prótons através da membrana celular (Arfa et al., 2006).

Essa hipótese foi levantada por Ultee et al. (2002), que propuseram que o grupo hidroxila e a presença de um sistema de deslocamento de elétrons seria importante para a atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos. Essa estrutura específica permitiria a eles atuar como trocadores de próton, levando assim a redução do gradiente através da membrana citoplasmática, resultando em um colapso da força próton motora e taxas elevadas de hidrólise de ATP, podendo levar a lise celular. Dessa forma, esses autores propuseram um mecanismo de troca, onde o grupo hidroxila atua como um carreador transmembrana de H^+ e K^+ , conforme demonstrado na Figura 4.

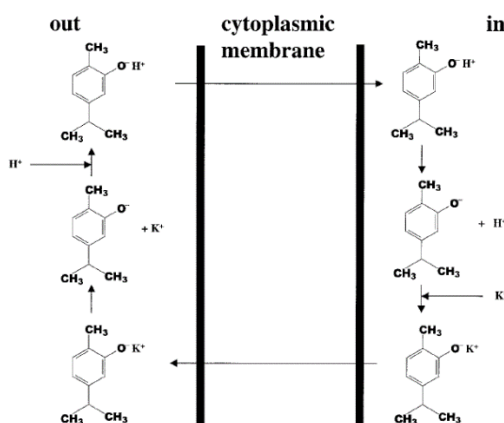


Figura 4 – Visão esquemática do mecanismo de ação do carvacrol (Adaptado de Ultee et al., 2002)

Como pode ser observado na Figura 4, o carvacrol na forma não dissociada se difunde através da membrana citoplasmática para o citoplasma da bactéria, onde se dissocia, liberando seu próton. Em seguida, o composto volta a ficar na forma não dissociada pela ligação a um íon potássio (ou outro íon) do citoplasma, que então é transportado através da membrana plasmática para o ambiente externo. O íon potássio é trocado por um próton e o carvacrol na forma protonada se difunde novamente através da membrana plasmática e se dissocia, liberando o próton no citoplasma.

Os monoterpenos Timol e Carvacrol são os principais componentes ativos do óleo de orégano e apresentam um grupo hidroxila fenólico em sua composição, e dependendo da concentração e do microrganismo presente, podem levar a lise da célula microbiana ou ao menos a limitação no seu crescimento (Ultee et al., 1999).

Ambos os componentes se mostraram capazes de provocar distúrbios na integridade da membrana plasmática bacteriana, elevando sua permeabilidade e provocando o

extravasamento de prótons e potássio, levando a perda do potencial elétrico de membrana da célula (Xu et al., 2008). Ultee et al. (2002) observaram que o Carvacrol levou a dissipação total do gradiente de pH da célula microbiana de *Bacillus cereus*.

Os compostos secundários não fenólicos encontrados nos óleos essenciais apresentam ações antimicrobianas variáveis. Os monoterpenos não fenólicos apresentam atividade antimicrobiana limitada quando comparados aos monoterpenos fenólicos. Esses componentes, devido a sua característica hidrofóbica, se inserem na dupla camada fosfolipídica da membrana celular microbiana, alinhando-se entre os ácidos graxos, afetando a ordenação dos lipídios e a estabilidade da bicamada lipídica, levando a formação de canais na membrana, resultando em uma elevação no fluxo passivo de prótons através da membrana celular (Xu et al., 2008).

O elevado acúmulo desses compostos na membrana provavelmente leva sua expansão e conseqüentemente a um aumento no espaçamento entre os fosfolipídios na membrana plasmática, levando a sua desestabilização e aumento da fluidez e permeabilidade passiva, permitindo o extravasamento de íons do citoplasma (Ultee et al., 2002).

Embora os monoterpenos não fenólicos possam desestabilizar a membrana citoplasmática e reduzir o potencial de membrana da célula microbiana, o sistema de deslocamento de elétrons associado ao grupo hidroxila leva a uma redução dos gradientes de pH e iônico mais acentuados, levando a uma maior atividade antimicrobiana desses compostos (Ultee et al., 2002).

Cristani et al. (2007) sugeriram que os monoterpenos não fenólicos seriam capazes de se difundir através da membrana celular até chegar ao citoplasma dos microrganismos, atuando como facilitadores da entrada dos monoterpenos fenólicos na célula microbiana, indicando que eles possam atuar como potencializadores dos efeitos antimicrobianos dos monoterpenos fenólicos.

Fenilpropenos, que também são compostos fenólicos, parecem exercer efeitos semelhantes ao dos monoterpenos, contudo, Burt (2004), relatou um efeito inibitório desses componentes sobre a produção e atividade de enzimas microbianas por meio de sua ligação a estas.

Weedakoon & Sakaguchi (1995) observaram que o óleo de canela (com seu principal componente ativo, o cinamaldeído, um fenilpropeno) foi eficiente em inibir a ação de enzimas aminoácidos-descarboxilase de *Enterobacter aerogenes*. Esses autores sugeriram que o grupo funcional carbonil seria o responsável pela ligação as proteínas, inibindo assim sua ação. Thoroski et al. (1989) demonstraram a inibição na produção de amilases e proteases em

Bacillus cereus com a utilização de eugenol (fenilpropeno, principal componente do óleo de cravo).

Os óleos essenciais tendem a apresentar atividade antimicrobiana seletiva contra bactérias Gram-positivas. Isso ocorre devido às características da membrana celular dessas bactérias, fornece uma menor proteção contra a ação dos óleos essenciais em relação às Gram-negativas (Burt, 2004).

Devido ao envoltório celular das bactérias Gram-negativas ser constituído por uma membrana externa de proteção formada por proteínas, lipoproteínas, lipopolissacarídeos e porinas (canais de proteína com tamanho limite de, aproximadamente, 600 Da), estas possuem maior proteção contra o efeito dos óleos essenciais que as bactérias Gram-positivas. Como estas não possuem uma membrana externa, apresentando apenas uma camada espessa de peptidoglicano, mais porosa, sua população é mais amplamente afetada pelo seu uso dos óleos essenciais (Russel, 1997).

Alguns compostos presentes em óleos essenciais podem atuar não só contra bactérias Gram-positivas, mas também contra as Gram-negativas. Foi sugerido que óleos essenciais que demonstram efeito sobre bactérias Gram-negativas possuem metabólitos secundários ativos de tamanhos bastante reduzidos, como o carvacrol e o timol (monoterpenóides), permitindo sua passagem através das porinas na membrana externa dessas bactérias e possibilitando assim, o acesso à membrana citoplasmática bacteriana, onde exercerão seus efeitos (Dorman & Deans, 2000).

A baixa seletividade de algumas substâncias presentes nos óleos essenciais por determinadas populações de bactérias no rúmen, torna mais difícil modular a fermentação ruminal de forma favorável com a utilização desses produtos (Calsamiglia et al., 2007).

3. Histórico dos óleos essenciais na nutrição de ruminantes

As plantas aromáticas, bem como os respectivos óleos essenciais, são utilizadas desde o início da história da humanidade para saborizar comidas e bebidas, disfarçar odores desagradáveis e controlar problemas sanitários, demonstrando uma antiga tradição sociocultural e socioeconômica da utilização destes produtos (Franz, 2010).

Os óleos essenciais apresentam uma grande variedade de possibilidades de uso, como na composição de perfumes, aromatizantes, produtos de limpeza, na medicina e na conservação de alimentos, sendo essas utilizações baseadas em atividades biológicas presentes nesses óleos como suas atividades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias e citotóxicas, havendo grande demanda especialmente para as áreas de produtos de perfumaria

e indústria cosmética com crescente demanda pelas indústrias alimentícias e farmacêuticas (Kamatou et al., 2008).

Devido à sua versatilidade, os óleos essenciais passaram a ser utilizados de diferentes formas, tidas como não convencionais. Dentre elas podem ser citados seu uso como pesticida, inseticida, herbicida, entre outros. Cerca de 90% da produção mundial de óleos essenciais é utilizada para a produção de fragrâncias e palatabilizantes, contudo, a fração desses produtos destinada a usos medicinais (saúde humana e animal) e como aditivos melhoradores do desempenho para animais vem aumentando na última década (Holmes, 2007).

Crane et al. (1957) foram provavelmente os primeiros autores a demonstrar os efeitos dos óleos essenciais associados a fermentação ruminal, verificando inibição da formação de CH₄ em sistemas de fermentação *in vitro* com a adição de limoneno e pineno (monoterpenos).

Posteriormente, Borchers (1965) verificou, em um ensaio *in vitro*, que a adição do timol ao líquido ruminal (principal componente ativo do tomilho e orégano) resultou no aumento do nitrogênio (N) aminoacídico e redução do N amoniacal, o que sugere que o timol reduziu a deaminação.

Apesar do potencial de uso dos óleos essenciais na modulação da fermentação ruminal, o início da utilização dos ionóforos como promotores de crescimento na década de 1970 levou a um desestímulo da avaliação da utilização de componentes secundários de plantas com essa finalidade. A avaliação do seu uso como aditivo alimentar ganhou um maior enfoque apenas recentemente, com a proibição do uso de uma grande variedade de antibióticos como aditivos alimentares na União Europeia em 1999 e sua proibição completa em 2006, devido à possibilidade de geração de resistência aos antibióticos em microrganismos patogênicos (Windisch et al., 2008).

As pesquisas avaliando a utilização de óleos essenciais como aditivos promotores de crescimento em dietas para animais de produção têm mostrado resultados contraditórios, contudo, estes produtos possuem potencial para proporcionar benefícios à produção animal (Windisch et al., 2008).

4. Histórico do uso do óleo de copaíba

A copaíba é uma árvore nativa da América Latina e África Ocidental, encontrada no Brasil nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Amazônica e produz uma óleo resina, com coloração que varia de amarelo ouro a marrom dependendo da espécie, podendo ser obtida por meio da perfuração do tronco da copaibeira (Pieri et al., 2009).

Em condições patológicas, pode se observar exudação da óleo resina da copaibeira (*Copaifera* spp.), que apresenta a função de desintoxicação do organismo vegetal, atuando como um mecanismo de defesa contra animais, fungos e bactérias (Alencar, 1982; Brito et al., 2005).

Desde a época da chegada dos primeiros exploradores europeus existem relatos do uso do óleo de copaíba, sendo suas propriedades medicinais amplamente difundidas entre os índios latino americanos. Esse conhecimento parece ter sido originado pela observação de animais que quando feridos, esfregavam-se no tronco de copaibeiras visando a cicatrização de suas feridas, como relatado por Gaspar Barléu “...*Vêem-se estas plantas esfoladas pelo atrito dos animais, que, procuram instintivamente este remédio da natureza...*” (Veiga Junior & Pinto, 2002).

Devido a sua apreciação pelos índios, que a utilizavam como cicatrizante e anti-inflamatório, a copaíba foi uma das primeiras espécies descritas pelos cronistas portugueses, com relatos desde 1534 em cartas que descreviam seu poder cicatrizante e odor agradável (Pieri et al., 2009).

Existem registros de exportação do óleo de copaíba para a Europa desde o final do século XVIII, sendo os principais importadores atuais do produto os Estados Unidos, França, Alemanha e Inglaterra, sendo amplamente utilizado na indústria de perfumes, cosméticos, na indústria de vernizes, como aditivo para alimentos, na indústria farmacêutica e na medicina popular, tendo sido aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration*), órgão americano regulamentador de drogas e alimentos em 1972 após a realização de testes de sensibilização e irritação em voluntários (Pieri et al., 2009).

As principais propriedades terapêuticas associadas a esse óleo são sua ação anti-inflamatória, ação cicatrizante, potencial antisséptico, antitumoral, antibacteriano, germicida, expectorante, diurético e analgésico (Brito et al., 2005; Francisco, 2005; Maciel et al., 2002). Pesquisas no campo da odontologia apontam o óleo de copaíba como substituto do Eugenol em algumas formulações em função da maior atividade antimicrobiana em associação com hidróxido de cálcio e por produzir menor irritação (Pieri et al., 2009).

A composição química do óleo de copaíba encontra-se descrita em diversos trabalhos, constatando o óleo ser constituído por uma mistura de sesquiterpenos, que predominam na maioria dos óleos, podendo corresponder por mais de 90% da sua composição e diterpenos. Óleos comerciais de diversas regiões do Brasil, provavelmente misturas de óleos de diferentes espécies do gênero foram analisados, tendo sido identificados mais de 78 sesquiterpenos e 43 diterpenos na sua composição. Os sesquiterpenos mais frequentemente encontrados nos

estudos são o α -copaeno, β -cariofileno, β -bisaboleno, β -elemeno, α -humuleno e δ e γ -cadineno, enquanto o ácido copálico é o diterpeno mais comumente encontrado. As Figuras 5 e 6 ilustram a estrutura química dos principais sesquiterpenos e diterpenos, respectivamente, encontrados no óleo de copaíba. Os sesquiterpenos e diterpenos já detectados no óleo de copaíba em diferentes estudos podem ser encontrados em Leandro et al. (2012) e Veiga Junior & Pinto (2002).

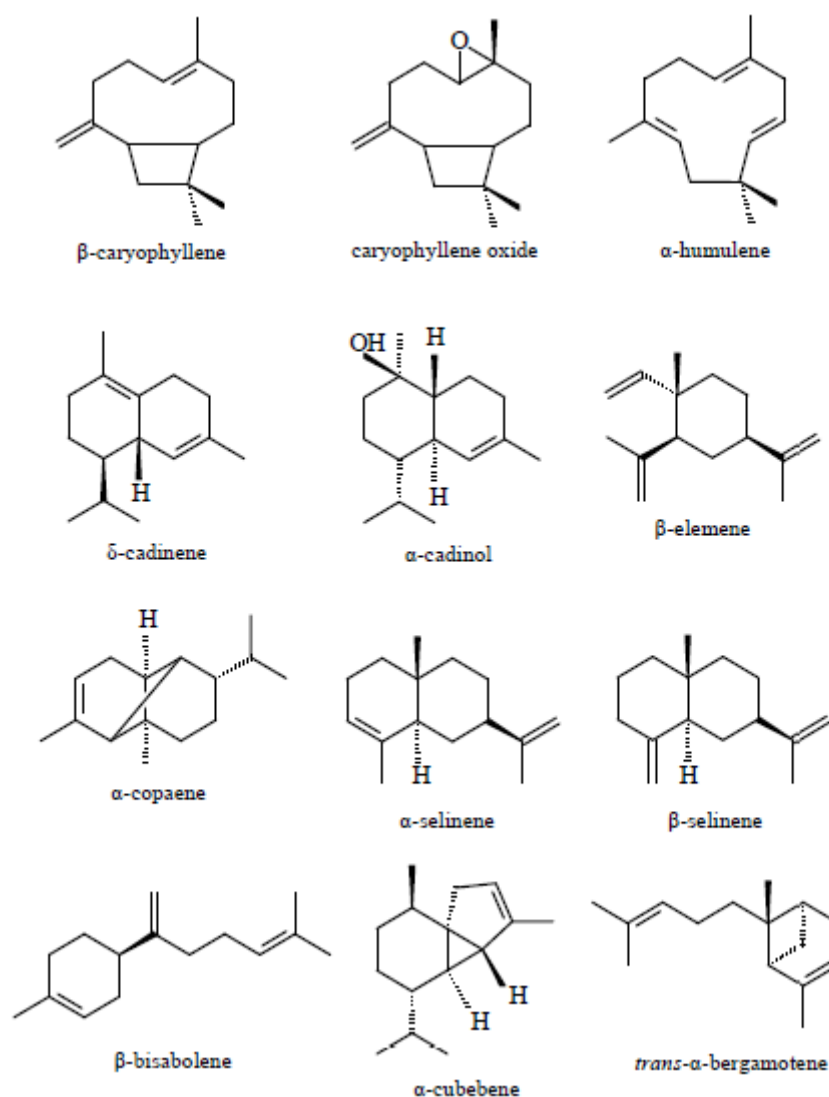


Figura 5 – Principais sesquiterpenos detectados no óleo de copaíba (Leandro et al., 2012)

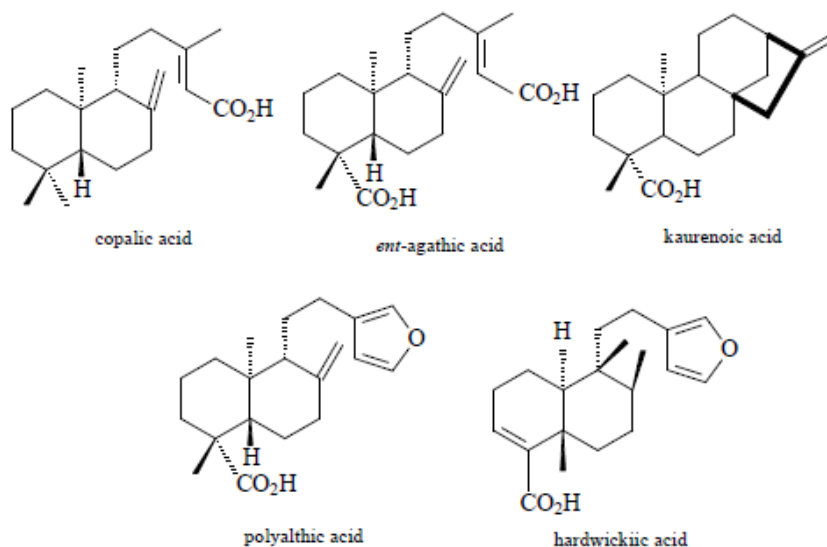


Figura 6 – Principais diterpenos detectados no óleo de copaíba (Leandro et al., 2012)

Os componentes presentes em maior concentração no óleo de copaíba são o β -cariofileno e seu óxido (46,1 a 47,0%), α -copaeno (7,9 a 18,7%), δ e γ -cadineno (6,0 a 6,2%), β -bisaboleno (5,9 a 6,1%), α -humuleno (5,4 a 5,6%) e α -cubeno (2,9 a 3,2%), com os demais componentes correspondendo a aproximadamente 13,5 da sua composição total (Mendonça & Onofre, 2008). Todavia, a participação de cada componente no óleo pode ser amplamente variável em função do tipo de solo, época do ano, pluviosidade e espécie de *Copaifera* da qual foi extraído (Barbosa et al., 2012; Oliveira et al., 2006).

A participação dos diferentes componentes nos óleos extraídos das espécies *C. multijuga* Hayne, *C. cearensis* Huber ex Ducke e *C. reticulata* pode ser verificada em Barbosa et al. (2012) e Veiga Junior et al. (2007).

Estudos tem atestado a atividade antimicrobiana do óleo de copaíba. Santos et al. (2008) avaliaram a atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de três espécies de copaíba (*Copaifera martii*, *Copaifera officinalis* e *Copaifera reticulata*) e observaram boa atividade dos óleos contra microrganismos Gram-positivos (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* e *Enterococcus faecalis*) e ausência de efeito sobre microrganismos Gram-negativos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexnerii* e *Enterobacter cloacae*). Imagens de microscopia eletrônica de *S. Aureus* tratados com óleo de copaíba revelaram lise das células, bem como danos e rompimento da membrana da célula, resultando em alterações morfológicas, liberação de componentes citoplasmáticos e redução no volume celular.

A atividade antimicrobiana do óleo de copaíba não pode ser atribuída a um único componente, sendo suas atividades farmacológicas atribuídas a diferentes compostos, que podem interagir de forma sinérgica, sendo grande parte da atividade antimicrobiana do óleo atribuída aos seus principais sesquiterpenos. Diversas propriedades biológicas do óleo de copaíba como sua atividade inseticida, antibacteriana e antifúngica têm sido atribuídas ao β -cariofileno e seu óxido, que é um de seus principais componentes, todavia, foi verificada atividade antimicrobiana em sesquiterpenos presentes em menor concentração como δ -cadineno e α -cadinol, assim como nos diterpenos ácido copálico e ácido Hardwickiic (Leandro et al., 2012).

As propriedades do óleo de copaíba vem sendo amplamente estudadas com ênfase na saúde humana e animal, bem como na indústria de cosméticos, todavia, seu potencial de uso como aditivo melhorador de desempenho, principalmente na manipulação do ambiente ruminal, ainda não são conhecidos.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, J. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* Hayne - Leguminosae, na Amazônia central. 2 – produção de óleo resina. **Acta Amazônica**, v. 12, n. 1, p. 79-82, 1982.
- ARFA, A. B.; COMBES, S.; PREZIOSI-BELLO, L. GONTARD, N.; CHALIER, P. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 149-154, 2006.
- BARBOSA, P. C. S.; MEDEIROS, R. S.; SAMPAIO, P. T. B.; VIEIRA, G.; WIEDEMANN, L. S. M.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Influence of Abiotic Factors on the Chemical Composition of Copaiba Oil (*Copaifera multijuga* Hayne): Soil Composition, Seasonality and Diameter at Breast Height. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 10, 1823-1833, 2012.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H. V.; BERTHIAUME, R.; OUELLET, D. R.; CHIQUETTE, J.; CHOUINARD, P. Y. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 2, p. 886-897, 2007.
- BORCHERS, R. Proteolytic activity of rumen fluid in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 24, p. 1033–1038, 1965.
- BRITO, M. V. H.; MOREIRA, R. J.; TAVARES, M. L. C.; CARBALLO, M. C. S.; CARNEIRO, T. X.; SANTOS, A. A. S. Copaiba oil effect on urea and creatinine serum levels in rats submitted to kidney ischemia and reperfusion syndrome. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 243-246, 2005.
- BURT, S. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.
- CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P. W.; CASTILLEJOS, J.; FERRET, A. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 2580-2595, 2007.

- CRANE, A.; NELSON, W. O.; BROWN, R. E. Effects of D-limonene and α -D-pinene on *in vitro* carbohydrate disimilation and methane formation by rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 40, n. 10, p. 1317-1323, 1957.
- CRISTANI, M.; D'ARRIGO, M.; MANDALARI, G.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; MICIELI, D.; VENUTI, V.; BISIGNANO, G.; SAIJA, A. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6300-6308, 2007.
- DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 2, p. 308-316, 2000.
- FERELI, F.; BRANCO, A. F.; JOBIM, C.; CONEGLIAN, S. M.; GRANZOTTO, F.; BARRETO, J. C. Monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p. 183-190, 2010.
- FRANCISCO, S. G. Uso do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) em inflamação ginecológica. **Femina**, v. 33, n. 2, p. 89-93, 2005.
- FRANZ, C. M. Essential oil research: past, present and future. **Flavour Fragrance Journal**, v. 25, n. 3, p. 112-113, 2010.
- GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. Terpenoids. In: ROSENTHAL, G. A.; BERENBAUM, M. R. **Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites**. San Diego: Academic Press, INC, p. 165-219, 1991.
- GIANNENAS, I.; BONOS, E.; CHRISTAKI, E. FLOROU-PNERI, P. Essential oils and their applications in animal nutrition. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 2, n. 6, p. 1-12, 2013.
- HOLMES, C. A. **IENICA, European Summary Report**. 2007. Acesso em: 20 de dezembro de 2015. Disponível em: <<http://www.ienica.net/reports/ienicafinalsummaryreport2000-2005.pdf>>.

- KAMATOU, G. P. P.; MAKUNGA, N. P.; RAMOGOLA, W. P. N.; VIJOEN, A. M. South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 3, p. 664–672, 2008.
- LEANDRO, L. M.; VARGAS, F. S.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. O.; SILVA, J. A.; VEIGA JUNIOR, V. F. Chemistry and biological activities of Terpenoids from *Copaiba* (*Copaifera* spp.) *Oleorensis*. **Molecules**, v. 17, p. 3866-3889, 2012.
- LICHTENTHALER, H. K. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 47-50, 1999.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-38, 2002.
- MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiacea* and *Compositae*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, n. 3, p. 187-195, 2001.
- MÁTHÉ, Á. Essential oils: Biochemistry, Production and Utilisation. In: STEINER, T. **Phytogenics in Animal Nutrition: Natural Concepts to Optimize Gut Health and Performance**. United Kingdom: Nottingham University Press, p. 1-18, 2009.
- MIGUEL, M. G. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, n. 5, p. 291-312, 2010.
- MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba – *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2, p. 577-581, 2009.
- MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.

- OLIVEIRA, E. C. P.; LAMEIRA, O. A.; ZOGHBI, M. G. B. Identificação da época de coleta do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.) no município de Moju, PA. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, n. 3, p. 14-23, 2006.
- PIERI, F. A.; SILVA, V. O.; SOUZA, C. F.; COSTA, J. C. M.; SANTOS, L. F.; MOREIRA, M. A. S. Antimicrobial profile screening of two oils of *Copaifera* genus. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 1, p. 241-244, 2012.
- PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, n. 4, p. 465-472, 2009.
- RUSSEL, J. B. Mechanisms of action of ionophores. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 1997. Ithaca, New York. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, p. 88-92, 1997.
- SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 1, p. 3-21, 2001.
- SANTOS, A. O.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B. P.; VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; NAKAMURA, C. V. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 3, p. 277-281, 2008.
- THOROSKI, J.; BLANK, G.; BILIADERIS, C. Eugenol induced inhibition of extracellular enzyme production by *Bacillus cereus*. **Journal of Food Protection**, v. 52, n. 4, p. 399-403, 1989.
- ULTEE, A.; BENNIK, M. H. J.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 1561–1568, 2002.

- 489 ULTEE, A.; KETS, E. P.; SMID, E. J. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne
490 pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 10, p. 4606–
491 4610, 1999.
- 492
- 493 VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p.
494 273-286, 2002.
- 495
- 496 VEIGA JUNIOR, V. F.; ROSAS, E. C.; CARVALHO, M. V.; HENRIQUES, M. G. M. O.;
497 PINTO, A. C. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from
498 *Copaifera cearenses* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga*
499 Hayne – A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 248-254, 2007.
- 500
- 501 XU, J.; ZHOU, F.; JI, B. P.; PEI, R. S.; XU, N. The antibacterial mechanism of carvacrol and
502 thymol against *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 174-179,
503 2008.
- 504
- 505 WEEDAKON, C. N.; SAKAGUCHI, M. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of
506 *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. **Journal of Food Protection**, v. 58,
507 n. 3, p. 280-283, 1995.
- 508
- 509 WINDISCH, W.; SCHEDULE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAYR, A. Use of phytogetic
510 products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 14, p.
511 140-148, 2008.

**Óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) como aditivo na dieta de bovinos: consumo,
digestibilidade e fermentação ruminal**

*Copaiba oil (Copaifera spp.) as additive in steers diet: intake, digestibility and rumen
fermentation*

Anderson Luiz de Lucca Bento & Gumerindo Lorian Franco

RESUMO: Objetivou-se avaliar o efeito do fornecimento de óleo de copaíba ou monensina sódica como aditivos nutricionais para bovinos recebendo suplemento concentrado sobre o consumo voluntário, digestibilidade dos nutrientes, degradabilidade ruminal e variáveis ruminais. Foram utilizados cinco novilhos cruzados providos de cânula permanente no rúmen. O delineamento experimental foi o quadrado latino (5x5), com 14 dias de adaptação e sete dias de colheita de dados. Os animais receberam dieta a base de feno de capim Massai e suplementação proteico/energética de 15 g kg⁻¹ PC (peso corporal) com os tratamentos experimentais: Controle – sem uso de aditivos, COP1,25; COP2,50 e COP3,75 – adição de 1,25, 2,50 e 3,75 g kg⁻¹ de MS da dieta de óleo copaíba, respectivamente e Monensina – adição de 40 mg kg⁻¹ MS da dieta de monensina sódica. Não foi observado efeito do fornecimento do óleo de copaíba sobre o consumo e digestibilidade aparente da MS e dos nutrientes, com redução de 11,9% no consumo de MS no tratamento contendo monensina sódica comparativamente ao controle. As variáveis de degradação da MS e FDN não foram influenciadas pelo fornecimento de óleo de copaíba, que apresentou degradação efetiva (DE) da MS superior a observada com o fornecimento de monensina sódica, com médias de 51,02, 48,81, 50,0, 49,47 e 43,82 g 100 g⁻¹ para os tratamentos controle, COP1,25, COP2,50, COP3,75 e Monensina, respectivamente. O fornecimento de óleo de copaíba não influenciou o pH e N-NH₃ ruminal. O óleo de copaíba, quando fornecido nas quantidades de 1,25 a 3,75 g kg⁻¹ de MS, em dietas com relação volumoso:concentrado próxima a 50:50, sendo o volumoso de baixa qualidade, não apresenta efeito sobre as variáveis estudadas.

543 **Palavras-chave:** degradabilidade, nitrogênio amoniacal, metabólitos secundários,
544 óleos essenciais, pH, ruminantes

545

546 **ABSTRACT:** The objective was to evaluate the effect of providing copaiba oil or
547 sodium monensin as nutritional additives to steers receiving concentrate
548 supplementation over their voluntary intake, nutrient digestibility, ruminal
549 disappearance and ruminal variables. Five crossbred steers fitted with permanent
550 cannula in the rumen were used. It was used a Latin Square design (5x5), with each
551 period consisting of 14 adaptation days and seven days of data collection. Animals
552 were fed a base diet of *Panicum maximum* cv. Massai hay and protein/energy
553 supplementation at 15 g kg⁻¹ of body weight with one of the experimental treatments:
554 Control – without additives inclusion, COP1.25, COP2.50 and COP3.75 - addition of
555 1.25, 2.50 and 3.75 g kg⁻¹ DM of copaiba oleoresin, respectively and Monensin –
556 addition of 40 mg kg⁻¹ DM of sodium monensin. There was no effect of copaiba oil
557 supplementation on intake and apparent digestibility of DM and nutrientes, with
558 decrease of 11.9% on dry matter intake when sodium monensin was provided. DM and
559 NDF degradation variables were not affected by copaiba oil supplementation, which
560 presented effective DM degradation higher than that observed with sodium monensin,
561 being 51.02, 48.81, 50.00, 49.47 and 43.82 g 100 g⁻¹ for Control, COP1.25, COP2.50,
562 COP3.75 and Monensin treatments, respectively. There was no influence of copaiba oil
563 over ruminal pH and N-NH₃. Copaiba oil, when provided in amounts between 1.25 and
564 3.75 g kg⁻¹ of DM in diets with roughage:concentrate ratio near 50:50, being low
565 quality roughage, has no effect into the studied variables.

566

567 **Keywords:** ammoniacal nitrogen, degradability, essential oils, pH, ruminants,
568 secondary metabolites

Introdução

Há muito são estudados aditivos nutricionais potencialmente capazes de influenciar os componentes do metabolismo ruminal, visando principalmente reduções nas emissões de metano, maximização da degradação das frações fibrosas e a conversão de nitrogênio não proteico em proteína microbiana.

Apesar dos benefícios conhecidos do uso dos ionóforos e antibióticos na manipulação da fermentação ruminal (Bretcheneider et al., 2008), esses aditivos vêm sofrendo cada vez mais restrições à sua utilização na nutrição animal, tendo sido banido, através do regulamento nº 1831/2003, pela União Europeia desde janeiro de 2006, que adotou o princípio da precaução na tentativa de minimizar a seleção de bactérias resistentes para humanos.

Produtos com componentes naturais vêm sendo estudados como possíveis manipuladores da fermentação ruminal em substituição ao uso de ionóforos. Estudos demonstraram ação dos óleos essenciais sobre diversos tipos de microrganismos, sendo sua atividade antimicrobiana atribuída ao número de terpenóides e compostos fenólicos, proporcionando alterações no perfil de AGV's, redução na produção de CH₄ e de amônia no rúmen (Calsamiglia et al., 2007).

O óleo de copaíba é composto por uma mistura de sesquiterpenos e diterpenos, tendo sido descritos mais de 78 sesquiterpenos e 43 diterpenos em óleos oriundos de diferentes espécies do gênero. Os sesquiterpenos podem corresponder por até 90 g 100 g⁻¹ da composição do óleo, sendo mais frequentemente identificados o α -copaeno, β -cariofileno, β -bisaboleno, α e β -selineno, α -humuleno e δ e γ -cadineno (Leandro et al., 2012; Veiga Junior & Pinto, 2002).

Pesquisas comprovaram a existência de propriedades antimicrobianas do óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) sobre microrganismos patogênicos de importância para a

saúde humana e animal utilizando as técnicas de difusão em disco e microdiluição, demonstrando ser capaz de inibir o crescimento de um amplo espectro de microrganismos Gram-positivos, com efeito inibitório sobre algumas cepas de microrganismos Gram-negativos como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Mendonça & Onofre, 2009; Pieri et al., 2012; Santos et al., 2008).

Como demonstrado, a literatura apresenta registros de sensibilidade de microrganismos Gram-positivos ao óleo de copaíba, havendo a necessidade de estudos para avaliar seu potencial de uso na manipulação da fermentação ruminal, visando reduções na deaminação de aminoácidos e produção de metano, bem como melhorar a eficiência de uso da dieta pelos animais.

Com este trabalho, objetivou-se avaliar o efeito do fornecimento de diferentes níveis de óleo de copaíba como aditivo nutricional para bovinos recebendo suplemento concentrado sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes, degradação da matéria seca e fibra em detergente neutro e variáveis ruminais pH e N-amoniaco.

608

609 **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Metabolismo Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), no período de abril a setembro de 2015, sendo aprovado pela Comissão de Ética e Uso de Animais da UFMS sob o protocolo nº 639/2014.

Foram utilizados cinco novilhos cruzados (1/2 Nelore + 1/2 Holandês) com peso corporal (PC) inicial de 279 ± 22 kg, providos de cânula permanente no rúmen, alojados em galpão coberto, com piso de concreto e baias individuais providas de comedouro e bebedouro.

O delineamento experimental foi o quadrado latino 5x5. Cada período

619 experimental teve 14 dias de adaptação e sete dias de colheita de dados, totalizando 21
620 dias por período experimental.

621 Os animais foram alimentados com dieta à base de feno de capim *Panicum*
622 *maximum* cv. Massai triturado sem uso de peneira e suplementação proteico/energética
623 a 15 g kg⁻¹ PC e os tratamentos experimentais foram feitos pela adição do óleo-resina
624 de copaíba ou do ionóforo monensina sódica ao suplemento concentrado diariamente
625 da seguinte forma: Controle – suplemento concentrado sem uso de aditivos, COP1,25,
626 COP2,50 e COP3,75 – suplemento concentrado com adição de 1,25, 2,50 e 3,75 g kg⁻¹
627 de MS da dieta total de óleo-resina de copaíba, respectivamente e Monensina –
628 suplemento concentrado com adição de 40 mg kg⁻¹ MS da dieta total de monensina
629 sódica.

630 O suplemento proteico-energético (Tabela 1) foi formulado pela combinação
631 dos ingredientes: milho grão (850 g kg⁻¹), farelo de soja (75 g kg⁻¹), ureia (25 g kg⁻¹) e
632 minerais (50 g kg⁻¹), e a dieta atendeu a uma expectativa de ganho de 1 kg d⁻¹ (NRC,
633 2000).

634 O volumoso e o concentrado foram oferecidos em cochos separados, sendo o
635 feno fornecido em duas refeições diárias, as 7 e 17 horas, e o concentrado somente às 7
636 horas. A quantidade de volumoso foi ajustada diariamente de modo a manter uma
637 sobra de aproximadamente 150 g kg⁻¹ de alimento fornecido.

638 Para determinação do pH e da concentração de N-NH₃ foram colhidas amostras
639 de líquido ruminal nos dois últimos dias de cada período experimental, com intervalos
640 de 4 horas entre as colheitas para obtenção de amostras a 1, 3, 5, 7 (antecedendo a
641 alimentação da manhã), 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 e 23 horas. O líquido ruminal foi
642 colhido (via cânula) de forma manual em diferentes locais do rúmen e filtrado em
643 fralda de algodão. Imediatamente após a colheita foi realizada a aferição do pH com o

644 uso de potenciômetro digital de bancada (B474 Micronal®).

645 Uma alíquota de 40 mL de líquido ruminal foi armazenada congelada em tubos
646 após a acidificação com 1 mL de H₂SO₄ (50%) para posterior determinação do N-NH₃.
647 O líquido ruminal foi descongelado e analisou-se o sobrenadante para teor de
648 nitrogênio não proteico (NNP) segundo método descrito por Fenner (1965).

649 Para avaliar a degradação da MS foi utilizada a técnica dos sacos de náilon,
650 utilizando tecido com porosidade de 50 µm, confeccionados nas dimensões de 7 x 14
651 cm, selados nas bordas e devidamente identificados. Os sacos foram pesados e
652 receberam 5 g de feno (moído em peneira de 2 mm). Cada saco foi preso a uma argola
653 de metal atada firmemente por meio de um elástico para seu fechamento. Foram
654 realizados 8 tempos de incubação (3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas), sendo os sacos
655 incubados sempre em duplicata, associados a um saco “branco” (sem adição de
656 amostra). Os sacos foram embebidos primeiramente em água por uma hora e
657 posteriormente presos a uma corrente de metal de 50 cm ligada a uma âncora de 600 g.
658 Em seguida foram introduzidos no rúmen via cânula sempre às 7 horas (antecedendo a
659 alimentação) em dias distintos da seguinte forma: dia 1 = 120 e 3 horas, dia 2 = 96 e 6
660 horas, dia 3 = 72 e 12 horas, dia 4 = 48 horas e dia 5 = 24 horas, sendo retirados após o
661 tempo previsto para incubação.

662 Após a retirada do rúmen, eles foram imediatamente imersos em água fria e
663 lavados em máquina de lavar por cinco minutos durante três ciclos. Em seguida foram
664 colocados em estufa de ventilação de ar forçada a 55°C onde permaneceram por 72
665 horas. Após este tempo foram retirados da estufa para resfriamento e posterior
666 pesagem. Os sacos foram incubados do 15º ao 19º dia de cada período experimental.

667 A fração solúvel “a” do feno contida nos sacos de náilon foi determinada
668 mantendo-se os sacos embebidos em água por uma hora, sendo a diferença entre os

669 pesos inicial e final da amostra considerada como a fração solúvel, determinada para
670 cada período experimental, que corresponderam aos valores da zero hora nas curvas de
671 degradação da matéria seca do feno.

672 As taxas de degradação da MS e FDN por hora “kd” foram determinadas com
673 base na fração insolúvel potencialmente degradável (fração “b”), que foi obtida após a
674 subtração da porção solúvel (fração “a”) e não degradável (resíduo da amostra após
675 120 horas de incubação). O “kd” foi então considerado como a inclinação obtida após a
676 realização de uma regressão linear simples do logaritmo neperiano “ln” das
677 degradações da fração “b” ao longo dos tempos de incubação.

678 As degradabilidades efetivas (DE) da MS e da FDN foram calculadas de acordo
679 com Ørskov e McDonald (1979), em que $DE = a + (b \times kd) / (kd + k)$, sendo “k” a taxa
680 de passagem de sólidos estimada no rúmen, considerada, no presente estudo como 0,05
681 h^{-1} , conforme sugerido por Huntington e Givens (1995).

682 A quantificação do consumo de MS e dos nutrientes foi realizada do 15º ao 19º
683 dia de cada período experimental, através da pesagem do feno e concentrado oferecidos
684 e das sobras diariamente. O ensaio de digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes
685 foi realizado por meio da coleta total de fezes de cada animal durante estes mesmos
686 dias, sendo as fezes coletadas imediatamente após a defecação, pesadas e amostradas
687 (100 g kg^{-1}) em intervalos de 6 horas e posteriormente congeladas. Os coeficientes de
688 digestibilidade aparente foram obtidos pela diferença entre o consumido da dieta pelo
689 animal e o que foi excretado nas fezes para cada nutriente (nutriente ingerido –
690 nutriente excretado / nutriente ingerido).

691 Ao final dos períodos experimentais as amostras foram secas em estufa de
692 ventilação forçada a 55°C por 72 horas, procedendo-se então a moagem em peneira de
693 1 mm para realização das análises laboratoriais. As baias foram limpas regularmente

694 para garantir que não houvesse contaminação das fezes por urina.

695 As análises bromatológicas do suplemento concentrado, feno, sobras e fezes
 696 foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (FAMEZ/UFMS) segundo as
 697 metodologias da AOAC (1995) para MS (967.03), proteína bruta (981.10), matéria
 698 mineral (942.05) extrato etéreo (920.29) e de Van Soest (1991) para fibra em
 699 detergente neutro, com a utilização de digestores de fibra Tecnal modelo TE-149®
 700 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) e sacos de tecido não tecido (TNT). Foi realizada a
 701 correção da FDN para os teores de cinzas e proteínas, obtendo-se o teor de FDNcp. O
 702 teor de CNF do capim Massai foi estimado como $CNF = 100 - (PB + MM + FDNcp +$
 703 $EE)$ e o suplemento concentrado $CNF = 100 - ((PB - PB \text{ derivada da ureia} + \text{inclusão}$
 704 $\text{de ureia}) + MM + FDNcp + EE)$ (Hall, 2000).

705 As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS
 706 (SAS Inst., Inc., Cary, NC) versão 9.4. Os dados de consumo, digestibilidade aparente
 707 e parâmetros de degradação da MS e FDN foram analisados utilizando um
 708 delineamento em Quadrado Latino 5 x 5. O modelo estatístico utilizado foi:

$$709 \quad Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + A_k + e_{ijk}$$

710 Onde: Y_{ijk} = observação do efeito do tratamento i no período j , do animal k , μ média
 711 geral, T_i = efeito do tratamento i , em que $i = 1$ (controle), 2 (COP1,25), 3 (COP2,50), 4
 712 (COP3,75) e 5 (Monensina); P_j = efeito do período j ($j = 5$ períodos); A_k = efeito do
 713 animal k ($k = 5$ animais) e e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

714 Para a degradação *in situ* da MS e FDN e variáveis ruminais pH e $N-NH_3$ foi
 715 considerado um delineamento em quadrado latino com parcelas subdivididas, onde as
 716 parcelas foram os tratamentos e as subparcelas os tempos de incubação das amostras no
 717 rúmen ou os diferentes horários de amostragem de líquido ruminal. O modelo incluiu
 718 os efeitos de tratamento, tempo de incubação, animal, período e tratamento x tempo

719 para a taxa de degradação *in situ* da MS e FDN. Para as variáveis ruminais pH e N-
 720 NH₃ o modelo estatístico incluiu os efeitos de tratamento, horários de amostragem,
 721 animal, período e tratamento x horário. O modelo estatístico utilizado foi:

$$722 \quad Y_{ijkl} = \mu + T_i + H_j + A_k + Pl + (TH)_{ij} + e_{ijkl}$$

723 Onde: Y_{ijkl} = observação do efeito do tratamento i para horas de incubação (taxa de
 724 degradação) ou horário de coleta (variáveis ruminais) j no animal k ; μ = média geral; T_i
 725 = efeito do tratamento em que $i = 1$ (controle), 2 (COP1,25), 3 (COP2,50), 4
 726 (COP3,75) e 5 (Monensina); H_j = efeito dos horários de incubação para
 727 desaparecimento ($j = 1, \dots, 8$) ou horário de coleta para variáveis ruminais ($j = 1, \dots, 13$);
 728 A_k = efeito do animal ($k = 1, \dots, 5$), Pl = efeito do período ($l = 1, \dots, 5$); TH_{ij} = interação
 729 entre tratamento i e tempo j ; e e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação.

730 Quando foram observadas diferenças significativas, as médias foram
 731 comparadas utilizando teste Tukey a 0,05 de significância.

732

733 **Resultados e Discussão**

734 Não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) dos diferentes níveis de
 735 inclusão de óleo de copaíba sobre o consumo de MS do feno, consumo de MS total e
 736 dos nutrientes, comparativamente ao grupo controle, com exceção ao consumo de EE
 737 total que, quando expresso em g kg⁻¹ PC foi mais elevado no tratamento COP3,75,
 738 diferindo ($P < 0,05$) dos demais tratamentos, seguido pelo tratamento COP2,50, que
 739 diferiu dos tratamentos Controle e Monensina, não diferindo do tratamento COP 1,25,
 740 devendo-se as diferenças ao fornecimento dos tratamentos experimentais, que
 741 corresponderam a até 30 g d⁻¹ de óleo de copaíba na dose mais elevada (Tabela 2).

742 Estudos avaliando o efeito da suplementação com diferentes compostos dos
 743 óleos essenciais também não demonstraram efeito sobre a ingestão de alimentos.

744 Em cordeiros suplementados com níveis crescentes de carvacrol (0; 0,15; 0,30 e
745 0,45 g kg⁻¹ MS) não foi observado alteração no consumo de MS (Koyuncu e Canbolat,
746 2010). Da mesma forma, Chaves et al. (2008) não encontraram efeito sobre a ingestão
747 de MS por cordeiros suplementados com 0,2 g kg⁻¹ de MS de carvacrol ou
748 cinamaldeído.

749 O fornecimento de uma mistura de monoterpenos a cabras leiteiras, composta
750 por linalol, p-cimeno, α -pineno e β -pineno com participação de 45,2, 36,7, 16,0 e 2,2
751 mol 100 mol⁻¹ de terpenos na mistura, respectivamente, fornecidos nas quantidades de
752 0,043 e 0,43 g kg⁻¹ de MS, também não influenciaram a ingestão de alimentos
753 (Malecky et al., 2009). Da mesma forma, níveis crescentes (0; 1,5; 3,0 e 4,0 g d⁻¹) de
754 uma mistura comercial de óleos essenciais (capsaicina, eugenol, cinamaldeído e
755 carvacrol) microencapsulados não apresentaram efeito sobre o consumo de alimentos
756 (Oliveira et al., 2014).

757 Os efeitos dos óleos essenciais e seus componentes ativos sobre a ingestão de
758 alimentos parece estar associada a problemas de palatabilidade de alguns compostos,
759 que pode levar a efeitos adversos sobre o consumo (Cardozo et al., 2006; Patra, 2011).
760 No entanto, a ausência de efeito dos níveis de óleo de copaíba sobre o consumo de
761 alimentos no presente experimento indica que não houve problema de palatabilidade
762 associado ao seu fornecimento nas doses utilizadas.

763 O fornecimento de monensina sódica reduziu o consumo de MS do feno
764 (P<0,05) em relação aos demais tratamentos, com consequente redução no consumo de
765 MS da dieta total quando expresso em g kg⁻¹ PC, proporcionando menores consumos
766 de PB, FDNcp, EE e MO (Tabela 2).

767 Reduções no consumo de MS são frequentemente observadas pelo uso de
768 ionóforos, que proporcionam um aumento da concentração de ácido propiônico, com

769 redução concomitante nas concentrações molares de ácido acético, ácido butírico,
770 ácido láctico, metano, dióxido de carbono e amônia, reduzindo também a fermentação
771 ruminal de aminoácidos, possibilitando sua absorção no intestino delgado. Tais
772 aspectos levam a um aumento na eficiência energética, suprimindo as necessidades
773 nutricionais com um menor consumo de alimentos (Rodrigues et al., 2013).

774 O fornecimento de óleo de copaíba nos diferentes níveis ou monensina sódica
775 não influenciou ($P>0,05$) os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, PB,
776 FDNcp, CNF e MO da dieta. Todavia, a digestibilidade do EE foi superior ($P<0,05$) no
777 tratamento COP3,75 em comparação ao Controle.

778 É possível que o maior coeficiente de digestibilidade aparente do EE esteja
779 associado à suplementação lipídica, que pode reduzir a síntese de lipídeos pelos
780 microrganismos ruminais (*síntese de novo*) a partir de produtos da fermentação de
781 carboidratos. Geralmente, sua síntese é elevada em dietas com baixo teor lipídico e
782 tende a reduzir com a sua suplementação, como resultado de uma maior captação de
783 lipídeos exógenos pela célula microbiana (Demeyer e Doreau, 1999).

784 A ausência de efeito do óleo de copaíba sobre a digestibilidade aparente da MS
785 e das demais frações pode ser decorrente do baixo efeito dos componentes ativos do
786 óleo sobre a membrana celular dos microrganismos ruminais, que permaneceram ativos
787 e se multiplicando no ambiente ruminal.

788 Verificou-se interação entre os tratamentos e os tempos de incubação sobre a
789 degradação *in situ* da MS e FDN (Figuras 1 e 2). As degradações da MS foram
790 semelhantes até 12 horas de incubação ($P>0,05$). Houve efeito de tratamento ($P<0,05$)
791 nos horários 24, 48, 72 e 96 horas, com o tratamento monensina apresentando
792 degradações inferiores aos demais. Às 120 horas de incubação, foi observada diferença
793 ($P<0,05$) apenas entre os tratamentos COP1,25 e Monensina, com os demais

794 tratamentos em posição intermediária. As médias de degradação da MS foram 67,80,
795 70,13, 67,42, 67,00 e 62,62 g 100 g⁻¹, respectivamente para Controle, COP1,25,
796 COP2,50, COP3,75 e Monensina (Figura 1).

797 Não foi observada diferença ($P>0,05$) sobre a degradação ruminal da FDN entre
798 o grupo controle e os diferentes níveis de óleo de copaíba. A degradação da FDN se
799 manteve estável até às 6 horas de incubação em todos os tratamentos, com posterior
800 aumento até às 120 horas. As degradabilidades foram semelhantes entre todos os
801 tratamentos até às 12 horas de incubação, passando o tratamento Monensina a diferir
802 dos tratamentos controle, COP1,25 e COP2,50 com 48 horas de incubação e de todos
803 os tratamentos após 72 horas, mantendo a diferença apenas para o tratamento COP1,25
804 com 120 horas de incubação (Figura 2).

805 Para os parâmetros de degradação ruminal da MS e FDN (Tabela 4), foi
806 observado diferença significativa ($P<0,05$) entre os aditivos para a fração insolúvel
807 potencialmente degradável (fração “b”) da MS, com o tratamento COP1,25
808 apresentando a maior média dessa fração, não diferindo ($P>0,05$) do Controle e
809 COP2,50, que por sua vez, não diferiram do tratamento COP3,75. O tratamento
810 Monensina apresentou a menor média da fração “b” diferindo ($P<0,05$) dos demais
811 tratamentos.

812 A taxa de degradação da MS do feno de capim Massai também foi influenciada
813 pelos tratamentos experimentais, sendo 29,4% inferior ($P<0,05$) para o tratamento
814 Monensina, em comparação ao Controle, com os tratamentos contendo óleo de copaíba
815 não diferindo ($P>0,05$) entre si e dos demais tratamentos.

816 Os menores valores da fração “b” e da taxa de degradação “kd” acarretaram em
817 uma menor degradação efetiva (DE) da MS do capim Massai quando fornecido

monensina sódica comparativamente aos tratamentos controle e com diferentes níveis de inclusão de óleo de copaíba ($P < 0,05$), que não diferiram entre si ($P > 0,05$).

Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos para a taxa de degradação da FDN, todavia, a fração “b” e a “DE” da FDN foram reduzidas ($P < 0,05$) pela suplementação com monensina sódica, levando a uma DE média de 20,15 g 100 g⁻¹, 22,6 e 20,3% inferior àquelas observadas nos tratamentos Controle e COP2,50, respectivamente. Os tratamentos com fornecimento de óleo de copaíba não diferiram entre si, assim como do Controle, com médias de DE da FDN de 26,18, 24,33, 25,29 e 24,67 g 100 g⁻¹ para os tratamentos Controle, COP1,25, COP2,50 e COP3,75, respectivamente.

Estudos tem demonstrado ação dos óleos essenciais sobre os microrganismos ruminais, com diferentes efeitos sobre a degradação da MS e das frações fibrosas da dieta no rúmen. Níveis crescentes de Eugenol (0, 400, 800, 1600 mg d⁻¹) fornecidos para novilhas de corte que receberam concentrado (800 g kg⁻¹ MS da dieta) reduziram de forma linear a degradação ruminal da FDN, não apresentando efeitos sobre a degradação ruminal da matéria orgânica e do amido (Yang et al., 2010).

O fornecimento de 1 g d⁻¹ de uma mistura de óleos essenciais (alho, orégano, canela e limão) ou de componentes ativos (eugenol, carvacrol, citral e cinamaldeído) a ovinos levou a redução na população de protozoários em ambos os tratamento, com redução das populações de *Fibrobacter succinogenes* e *Butyrivibrio fibrisolvens* no tratamento com a mistura de componentes ativos dos óleos, não havendo efeitos sobre a digestibilidade ruminal da MS e FDN (Lin et al., 2013).

Quando fornecido óleo de capim-limão ou uma mistura de óleo de alho e de gengibre a bovinos foram observados aumentos significativos na degradação potencial

842 do feno e da dieta total, com maior efetividade da dose 200 mg kg⁻¹ de MS para ambos
843 os aditivos (Nanon et al., 2014).

844 A ausência de resposta à suplementação com óleo de copaíba sobre as variáveis
845 de degradação ruminal indica ausência ou baixo efeito tóxico deste sobre os
846 microrganismos ruminais nas condições de avaliação. Tais resultados podem sugerir
847 que o óleo de copaíba não apresentou efeito ionofórico, tal como a monensina sódica e
848 alguns dos diferentes óleos essenciais já citados anteriormente.

849 As menores degradabilidades ruminais da MS e FDN na dieta contendo
850 monensina sódica pode ser atribuída ao pH ruminal abaixo da faixa considerada como
851 ideal para a atividade de microrganismos fibrolíticos nesse tratamento, bem como a
852 ação do ionóforo sobre as populações de bactérias gram-positivas, fungos e
853 protozoários, principais responsáveis pela degradação da fração fibrosa da dieta
854 (Rodrigues et al., 2007).

855 A monensina sódica pode limitar o crescimento de bactérias celulolíticas e
856 protozoários em dietas à base de forragem, reduzindo consequentemente a degradação
857 da fração fibrosa (Prado et al., 2010) efeito não observado pela suplementação com
858 óleo de copaíba nas doses aqui avaliadas.

859 Foram observadas interações entre os tratamentos e os horários de colheita de
860 fluido ruminal para os valores de pH ruminal (Figura 3). O tratamento Monensina
861 diferiu ($P < 0,05$) do Controle e daqueles com níveis crescentes de óleo de copaíba entre
862 as amostragens das 13 e 21 horas. Os valores de pH nos tratamentos com óleo de
863 copaíba não diferiram entre si ($P > 0,05$), nem do Controle nos diferentes horários de
864 amostragem.

865 Os valores de pH para todos os tratamentos permaneceram acima de 5,8, valor
866 considerado normal para o bom funcionamento do rúmen (Kolver e De Veth, 2002),

867 todavia, o pH do fluido ruminal no tratamento Monensina foi o único que se manteve
868 abaixo de 6,2 durante grande parte dos horários de amostragem, podendo ser limitante
869 a digestão da fibra em função da redução da atividade de microrganismos celulolíticos,
870 que são sensíveis a reduções de pH (Grant e Mertens, 1992).

871 O maior decréscimo do pH ruminal no tratamento Monensina pode ter ocorrido
872 em função do menor consumo de FDNcp, em média 8,97 g kg⁻¹ de PC nesse
873 tratamento, em comparação a consumos de 11,55, 11,58, 10,78 e 11,17 g kg⁻¹ de PC
874 respectivamente nos tratamentos Controle, COP1,25, COP2,50 e COP3,75, levando a
875 uma participação do consumo de feno de 420 g kg⁻¹ de MS da dieta quando fornecido
876 monensina sódica como aditivo nutricional, comparado a consumos de feno entre 487 e
877 502 g kg⁻¹ de MS nos demais tratamentos. O menor consumo relativo de forragem e
878 consequentemente de fibra resulta em menores tempos de consumo e ruminação, e
879 consequentemente, reduz a produção de saliva pelo animal, sendo esta a grande
880 responsável pelo tamponamento do ambiente ruminal (Mourthe et al., 2011).

881 Os maiores valores de pH para todos os tratamentos foram observados entre 9 e
882 11 horas, duas a quatro horas após o fornecimento da alimentação, com redução
883 gradativa após esse horário, chegando aos valores mínimos entre 17 e 19 horas.

884 As concentrações de N-NH₃ se elevaram após o fornecimento da alimentação,
885 com pico entre 11 e 15 horas (Figura 4), devido ao maior consumo de suplemento
886 durante esse período, havendo uma redução gradativa nas concentrações com o passar
887 do tempo após a alimentação da manhã. Devido ao baixo teor proteico do feno, seu
888 fornecimento no período da tarde não foi capaz de provocar grandes elevações nas
889 concentrações de N-NH₃.

890 Foram observadas diferenças significativas (p<0,05) tanto entre tratamentos
891 como entre os horários de colheita para as concentrações de N-NH₃ (Figura 4). Os

892 tratamentos com a inclusão de óleo de copaíba não diferiram entre si nem do
893 tratamento controle, demonstrando não haver efeito da inclusão do óleo sobre essa
894 característica nos níveis avaliados.

895 Uma das principais vantagens que têm sido associadas ao uso dos óleos
896 essenciais diz respeito a sua capacidade de redução da degradação proteica no rúmen,
897 reduzindo a taxa de deaminação, promovendo maior escape ruminal de aminoácidos
898 para o intestino delgado (McEwan et al., 2002).

899 Embora existam outros mecanismos, a principal ação dos óleos essenciais como
900 antimicrobianos parece estar associada a sua ação sobre a membrana celular bacteriana,
901 tendo em vista sua característica hidrofóbica, que lhe confere a capacidade de interagir
902 com os lipídios da membrana celular bacteriana, alterando sua estrutura e a tornando
903 mais fluida e permeável, permitindo o extravasamento de íons e outros componentes
904 citoplasmáticos (Carson et al., 2002; Lambert et al., 2001).

905 Todavia, o efeito dos óleos essenciais parece ser pH dependente, tendo sido
906 demonstrado aumento da atividade antimicrobiana com a redução nos valores de pH.
907 Apenas a forma não dissociada das moléculas é capaz de interagir com a bicamada
908 lipídica da membrana celular bacteriana, havendo aumento da forma não dissociada
909 com o decréscimo de pH, aumentando assim sua hidrofobicidade e permitindo uma
910 maior interação com a membrana celular bacteriana (Calsamiglia et al., 2007).

911 O fornecimento de uma mistura comercial de óleos essenciais (700 mg d⁻¹),
912 com a utilização de duas dietas (alto e baixo concentrado), levou a redução na
913 degradação ruminal *in situ* da PB de diferentes alimentos concentrados na dieta com
914 maior nível de concentrado, não havendo inibição da degradação proteica quando
915 fornecida dieta com baixa inclusão de concentrado (Molero et al., 2004).

916 No presente estudo, o consumo de MS do feno de baixa qualidade correspondeu

917 em média a 493 g kg⁻¹ do consumo total de alimentos dos animais nos tratamentos com
918 o fornecimento de óleo de copaíba, mantendo o pH ruminal sempre acima de 6,3, o que
919 pode ter limitado sua atividade antimicrobiana.

920 Embora os componentes do óleo de copaíba tenham potencial para controlar ou
921 limitar o crescimento de uma série de espécies de microrganismos patogênicos e não
922 patogênicos, ele aparentemente não apresentou efeito ionofórico no presente estudo,
923 apesar da grande amplitude das doses fornecidas diariamente. Todavia, a ausência de
924 efeito pode ser decorrente de um ambiente ruminal pouco propício para sua ação, com
925 pH próximo a neutralidade, devendo esse aspecto ser observado em estudos
926 subsequentes.

927

928 **Conclusões**

929 O fornecimento de monensina sódica acarretou em redução do consumo de MS,
930 e na degradação ruminal da MS e do FDN do volumoso, apresentando seu efeito
931 ionofórico esperado.

932 O óleo de copaíba, quando fornecido nas quantidades de 1,25 a 3,75 g kg⁻¹ de
933 MS, em dietas com relação volumoso:concentrado próxima a 50:50, não apresentou
934 efeito sobre as variáveis estudadas.

935 A utilização do óleo de copaíba como modulador da fermentação ruminal não é
936 recomendada, devendo-se realizar estudos complementares, visando a avaliação do seu
937 potencial em um ambiente ruminal mais ácido.

Referências

- 938
- 939 AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 1995. Official methods of
940 analysis. 16th ed. AOAC International, Arlington, VA.
- 941 Bretschneider, G.; Elizalde, J. C. and Pérez, F. A. 2008. The Effect of Feeding
942 Antibiotic Growth Promoters on the Performance of Beef Cattle Consuming Forage-
943 Based Diets: A review. *Livestock Science* 114:135-149.
- 944 Calsamiglia, S.; busquet, M.; Cardozo, P. W.; Castillejos, J. and Ferret, A. 2007.
945 Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal*
946 *of Dairy Science* 90:2580-2595.
- 947 Cardozo, P. W.; Calsamiglia, S.; Ferret, A. and Kamel, C. 2006. Effects of alfalfa
948 extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal
949 fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high concentrate diet.
950 *Journal of Animal Science* 84:2801- 2808.
- 951 Carson, C. F.; Mee, B. J. and Riley, T. V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca*
952 *alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis,
953 leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents*
954 *and Chemotherapy* 46:1914-1920.
- 955 Chaves, A. V.; Stanford, K.; Gibson, L. L.; McAllister, T. A. and Benchaar, C. 2008.
956 Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth
957 performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science*
958 *and Technology* 145:396-408.
- 959 Demeyer, D. and Doreau, M. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat
960 and milk lipids. *Proceedings of the Nutrition Society* 58:593-607.
- 961 Fenner, H. 1965. Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam
962 distillation. *Journal of Dairy Science* 48:249–251.
- 963 Grant, R. J. and Mertens, D. R. Influence of butter pH and raw corn starch addition on
964 *in vitro* fiber digestion kinetics. 1992. *Journal of Dairy Science* 75:2762-2768.
- 965 Hall, M. B. 2000. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that
966 contain non-protein nitrogen. Gainesville: University of Florida A25-A32.
- 967 Huntington, G. B. and Givens, D. I. 1995. The in situ technique for studying the rumen
968 degradation of feeds: A review of the procedure. *Nutrition Abstract and Reviews*
969 65:63-93.
- 970 Kolver, E. S. and De Veth, M. J. 2002. Prediction of ruminal pH from pasture based
971 diets. *Journal of Dairy Science* 85:1255-1266.
- 972 Koyuncu, M. and Canbolat, O. 2010. Effect of Carvacrol on intake, rumen
973 fermentation, growth performance and carcass characteristics of growing lambs.
974 *Journal of Applied Animal Research* 38:245-248.
- 975 Lambert, R. J. W.; Skandamis, P. N.; Coote, P. and Nychas, G. J. E. 2001. A study of
976 the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil,
977 thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* 91:453-462.
- 978 Leandro, L. M.; Vargas, F. S.; Barbosa, P. C. S.; Neves, J. K. O.; Silva, J. A. and Veiga
979 Junior, V. F. 2012. Chemistry and biological activities of Terpenoids from *Copaiba*
980 (*Copaifera* spp.) *Oleorensis*. *Molecules* 17:3866-3889.

- 981 Lin, B.; Lu, Y.; Salem, A. Z. M.; Wang, J. H.; Liang, Q. and Liu, J. X. 2013. Effects of
982 essential oil combinations on sheep ruminal fermentation and digestibility of a diet
983 with fumarate included. *Animal Feed Science and Technology* 184:24-32.
- 984 Malecky, M.; Broudiscou, L. P. and Schmidely, P. 2009. Effects of two levels of
985 monoterpene blend on rumen fermentation, terpene and nutrient flows in the
986 duodenum and milk production in dairy goats. *Animal Feed Science and*
987 *Technology* 154:24-35.
- 988 McEwan, N. R.; Graham, R. C.; Wallace, R. J.; Losa, R.; Williams, P. and Newbold,
989 C. J. 2002. Effect of essential oils on protein digestion in the rumen. *Reproduction*
990 *Nutrition Development* 42:65-66.
- 991 Mendonça, D. E. and Onofre, S. B. 2009. Atividade antimicrobiana do óleo-resina
992 produzido pela copaiba – *copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). *Revista*
993 *Brasileira de Farmacognosia* 19:577-581.
- 994 Molero, R.; Ibars, M.; Calsamiglia, S.; Ferret, A. and Losa, R. 2004. Effects of a
995 specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein
996 degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. *Animal*
997 *Feed Science and Technology* 114:91-104.
- 998 Mourthe, M. H. F.; Reis, R. B.; Ladeira, M. M.; Souza, R. C.; Coelho, S. G. and
999 Saturnino, H. M. 2011. Suplemento múltiplo com ionóforos para novilhos em
1000 pasto: consumo, fermentação ruminal e degradabilidade *in situ*. *Arquivo Brasileiro*
1001 *de Medicina Veterinária e Zootecnia* 63:129-135.
- 1002 Nanon, A.; Sukombat, W. and Yang, W. Z. 2014. Effects of essential oils
1003 supplementation on *in vitro* and *in situ* feed digestion in beef cattle. *Animal Feed*
1004 *Science and Technology* 196:50-59.
- 1005 NRC - National Research Council - NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 8.ed.
1006 Washington, D.C., 2000. 234p.
- 1007 Oliveira, H. B. N.; Leonel, F.; Villela, S. D. J.; Lobo Júnior, A. R.; Guimarães, E. C.;
1008 Santiago, B. T.; Carvalho, J. M.; Resende, R. J. V. and Araújo, R. P. 2014.
1009 Desempenho de vacas em lactação consumindo dietas contendo misturas de óleos
1010 essenciais. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 15:670-678.
- 1011 Ørskov, E. R. and McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the
1012 rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage.
1013 *Journal of Agricultural Science* 92:499-503.
- 1014 Patra, A. K. 2011. Effects of Essential oils on rumen fermentation, microbial ecology
1015 and ruminant production. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 6:416-
1016 428.
- 1017 Prado, O. P. P.; Zeoula, L. M.; Moura, L. P. P.; Franco, S. L.; Prado, I. N. and Gomes,
1018 H. C. C. 2010. Digestibilidade e parâmetros ruminais de dietas à base de forragem
1019 com adição de própolis e monensina sódica para bovinos. *Revista Brasileira de*
1020 *Zootecnia* 39:1336-1345.
- 1021 Pieri, F. A.; Silva, V. O.; Souza, C. F.; Costa, J. C. M.; Santos, L. F. and Moreira, M.
1022 A. S. 2012. Antimicrobial profile screening of two oils of *Copaifera* genus. *Arquivo*
1023 *Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 64:241-244.
- 1024 Rodrigues, E.; Arrigoni, M. B.; Andrade, C. R. M.; Martins, C. L.; Millen, D. D.;
1025 Parra, F. S.; Jorge, A. M. and Andrighetto, C. 2013. Performance, carcass

- 1026 characteristics and gain cost of feedlot cattle fed a high level of concentrate and
1027 different feed additives. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42:61-69.
- 1028 Rodrigues, P. H. M.; Peixoto Júnior, K. C.; Morgullis, S. C. F.; Silva, E. J. A.; Meyer,
1029 P. M. and Pires, A. V. 2007. Avaliação da monensina administrada pela forma
1030 convencional ou por dispositivo de liberação lenta (bólus) em bovinos alimentados
1031 com forragens de baixo valor nutritivo e suplementados ou não com uréia. *Revista*
1032 *Brasileira de Zootecnia* 36: 1937-1944.
- 1033 Santos, A. O.; Ueda-Nakamura, T.; Dias Filho, B. P.; Veiga Junior, V. F.; Pinto, A. C.
1034 and Nakamura, C. V. 2008. Antimicrobial activity of brazilian copaiba oils obtained
1035 from different species of the *Copaifera* genus. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*
1036 103:277-281.
- 1037 Van Soest, P. J.; Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991. Symposium: carbohydrate
1038 methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of*
1039 *Dairy Science* 74:3583-3597.
- 1040 Veiga Junior, V. F.; Pinto, A. C. 2002. O gênero *Copaifera* L. *Química Nova* 25:273-
1041 286.
- 1042 Yang, W. Z.; Benchaar, C.; Ametaj, B. N. and Beuchemin, K. A. 2010. Dose response
1043 to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal fermentation and
1044 intestinal digestion. *Animal Feed Science and technology* 158:57-64.

1045

Tabelas e Figuras

1046 Tabela 1 – Composição bromatológica do suplemento concentrado e do feno de
 1047 *Panicum Maximum* cv. Massai

Variável	Suplemento Concentrado ¹	Feno
Componente (g kg ⁻¹ de MS)		
Matéria Seca	889,66	879,63
Matéria Orgânica	928,33	922,57
Proteína Bruta	164,59	27,61
Fibra em Detergente Neutro ²	189,25	695,41
Extrato Etéreo	24,89	12,77
Carboidratos Não Fibrosos	590,10	186,78
Matéria Mineral ³	71,67	77,43

¹Composição do suplemento concentrado (g kg⁻¹): milho grão (850 g), farelo de soja (75 g), ureia (25 g) e minerais (50 g). ²Fibra em detergente neutro corrigida para o teor de cinzas e proteína. ³Níveis de garantia do suplemento concentrado(g ou mg kg⁻¹): Ca – máx: 18 g, mín - 12 g; P – máx: 5 g; Na – mín: 3,7 g; S – mín: 1,5 g; Zn – mín: 70,5 mg; F – máx: 50 mg; Cu – mín: 28 mg; Mn – mín: 12 mg; I – mín: 1,40 mg; Co – mín: 0,94 mg; Se – mín: 0,23 mg.

1048 Tabela 2 – Efeito do fornecimento de diferentes níveis de óleo de copaíba ou
 1049 monensina sódica sobre o consumo (kg d^{-1} e g kg^{-1} PC)

Consumo ²	Tratamentos ¹					EPM	P-value
	Controle	COP1,25	COP2,50	COP3,75	Monensina		
	kg d^{-1}						
MS Feno	4,20 ^a	4,21 ^a	3,97 ^a	4,02 ^a	3,11 ^b	0,358	0,0021
MS Total	8,37 ^{ab}	8,40 ^a	8,15 ^{ab}	8,20 ^{ab}	7,37 ^b	0,484	0,0325
PB Feno	0,12 ^a	0,12 ^a	0,10 ^{ab}	0,11 ^{ab}	0,08 ^b	0,014	0,0060
PB Total	0,80 ^a	0,81 ^a	0,79 ^a	0,79 ^a	0,78 ^a	0,031	0,6424
FDNcp Feno	2,91 ^a	2,92 ^a	2,72 ^a	2,81 ^a	2,16 ^b	0,250	0,0023
FDNcp Total	3,70 ^a	3,71 ^a	3,52 ^a	3,60 ^a	2,97 ^b	0,264	0,0042
EE Feno	0,06 ^a	0,06 ^a	0,05 ^a	0,06 ^a	0,04 ^a	0,006	0,0423
EE Total	0,16 ^b	0,17 ^{ab}	0,18 ^{ab}	0,19 ^a	0,15 ^b	0,014	0,0075
CNF Feno	0,79 ^a	0,80 ^a	0,80 ^a	0,76 ^{ab}	0,59 ^b	0,091	0,0152
CNF Total	3,25 ^a	3,27 ^a	3,27 ^a	3,23 ^a	3,10 ^a	0,202	0,6735
MO Feno	3,87 ^a	3,89 ^a	3,68 ^a	3,73 ^a	2,87 ^b	0,335	0,0023
MO Total	7,74 ^{ab}	7,78 ^a	7,56 ^{ab}	7,61 ^{ab}	6,82 ^b	0,451	0,0337
	g kg^{-1} PC						
MS Feno	13,15 ^a	13,15 ^a	12,14 ^a	12,51 ^a	9,43 ^b	0,967	0,0003
MS Total	26,03 ^a	26,19 ^a	24,94 ^a	25,41 ^a	22,31 ^b	0,895	0,0001
PB Feno	0,39 ^a	0,37 ^a	0,34 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,25 ^b	0,061	0,0230
PB Total	2,51 ^a	2,52 ^a	2,44 ^{ab}	2,49 ^a	2,37 ^b	0,042	0,0006
FDNcp Feno	9,12 ^a	9,11 ^a	8,36 ^a	8,73 ^a	6,54 ^b	0,706	0,0005
FDNcp Total	11,55 ^a	11,58 ^a	10,78 ^a	11,17 ^a	8,97 ^b	0,684	0,0003
EE Feno	0,17 ^a	0,17 ^a	0,16 ^{ab}	0,17 ^a	0,13 ^b	0,017	0,0179
EE Total	0,49 ^c	0,53 ^{bc}	0,54 ^b	0,58 ^a	0,45 ^d	0,020	<,0001
CNF Feno	2,45 ^a	2,49 ^a	2,39 ^a	2,32 ^a	1,79 ^b	0,219	0,0017
CNF Total	10,04 ^a	10,19 ^a	9,95 ^{ab}	9,93 ^{ab}	9,39 ^b	0,280	0,0073
MO Feno	12,13 ^a	12,15 ^a	11,25 ^a	11,58 ^a	8,70 ^b	0,904	0,0003
MO Total	24,08 ^a	24,26 ^a	23,13 ^a	23,55 ^a	20,66 ^b	0,837	0,0001

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si ($P < 0,05$). EPM = Erro padrão da média.

¹Tratamentos: Controle – sem aditivos, COP1,25, COP2,50, COP3,75 – adição de 1,25; 2,50 e 3,75 g kg^{-1} de MS de óleo de copaíba, respectivamente, Monensina – adição de 40 mg kg^{-1} de MS de monensina sódica.

²MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para o teor de cinzas e proteína; EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos; MO: matéria orgânica.

1050 Tabela 3 - Efeito do fornecimento de diferentes níveis de óleo de copaíba ou
1051 monensina sódica sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (g kg^{-1})

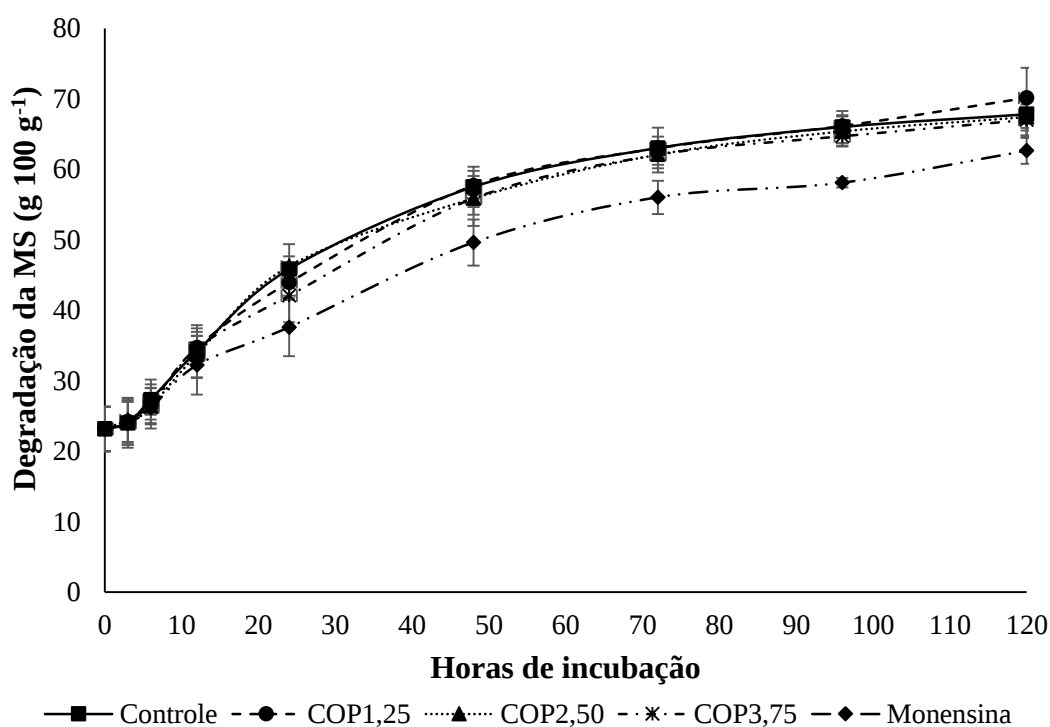
Digestibilidade ²	Tratamentos ¹					EPM	P-value
	Controle	COP1,25	COP2,50	COP3,75	Monensina		
Digestibilidade (g kg ⁻¹ MS)							
MS	601,48	595,98	596,13	590,23	614,92	24,57	0,5901
PB	687,86	678,70	676,00	686,62	703,57	25,34	0,4921
FDNcp	502,77	495,61	499,55	501,06	492,17	44,82	0,9954
EE	750,47 ^b	771,35 ^{ab}	795,78 ^{ab}	829,60 ^a	810,21 ^{ab}	37,34	0,0407
CNF	755,15	762,39	750,67	761,73	772,56	47,40	0,9578
MO	625,08	622,54	620,31	615,47	638,83	25,34	0,6692

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si ($P < 0,05$). EPM = Erro padrão da média.

¹Tratamentos: Controle – sem aditivos, COP1,25 – adição de 1,25 g kg^{-1} de MS de óleo de copaíba, COP2,50 – adição de 2,50 g kg^{-1} de MS de óleo de copaíba, COP3,75 – adição de 3,75 g kg^{-1} de MS de óleo de copaíba, Monensina – adição de 40 mg kg^{-1} de MS de monensina sódica.

²MS: matéria seca; PB: proteína bruta; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para o teor de cinzas e proteína; EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos; MO: matéria orgânica.

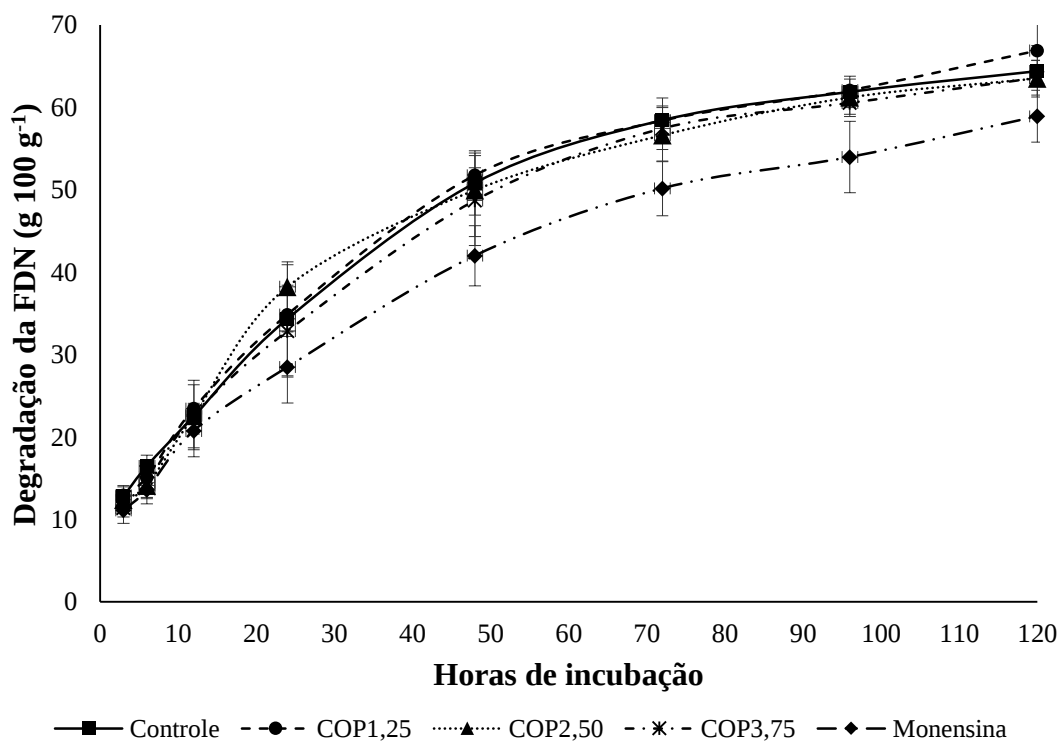
1052



1053

1054 Figura 1 – Degradação da MS do feno (g 100 g^{-1}) no rúmen de bovinos recebendo
1055 diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica. Barras verticais representam
1056 o desvio padrão. Fração “a”: 23,16 g 100 g^{-1}

1057



1058

1059 Figura 2 – Degradação da FDN do feno (g 100 g⁻¹) no rúmen de bovinos recebendo
 1060 diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica. Barras verticais representam
 1061 o desvio padrão

1062 Tabela 4 - Efeito do fornecimento de diferentes níveis de óleo de copaíba ou
 1063 monensina sódica sobre os parâmetros de degradação da MS e FDN do feno de capim
 1064 Massai

Parâmetros de degradação ²	Tratamentos ¹					EPM	P-value
	Controle	COP1,25	COP2,50	COP3,75	Monensina		
	MS (a = 23,16)						
b	44,64 ^{ab}	46,97 ^a	44,26 ^{ab}	43,84 ^b	39,46 ^c	1,523	<0,0001
kd	0,035 ^a	0,030 ^{ab}	0,034 ^{ab}	0,033 ^{ab}	0,025 ^b	0,004	0,0225
DE ³	51,02 ^a	48,81 ^a	50,0 ^a	49,47 ^a	43,82 ^b	2,141	0,0016
FDN							
b	64,41 ^a	66,90 ^a	63,54 ^a	63,61 ^a	58,93 ^b	2,066	0,0003
kd	0,034	0,030	0,033	0,032	0,027	0,005	0,2139
DE	26,02 ^a	24,33 ^{ab}	25,29 ^a	24,67 ^{ab}	20,15 ^b	2,614	0,0223

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si (P<0,05). EPM = erro padrão da média.

¹Tratamentos: Controle – sem aditivos, COP1,25, COP2,50 e COP3,75 – adição de 1,25, 2,50 e 3,75 g kg⁻¹ de MS de óleo de copaíba, respectivamente, Monensina – adição de 40 mg kg⁻¹ de MS de monensina sódica.

²Parâmetros de degradação: “a”: fração solúvel do feno (g 100 g⁻¹); “b”: fração insolúvel potencialmente degradável (g 100 g⁻¹); “c”: taxa de degradação (h⁻¹); “DE”: degradação efetiva (g 100 g⁻¹). ³Taxa de passagem de sólidos no rumem: 0,05 h⁻¹.

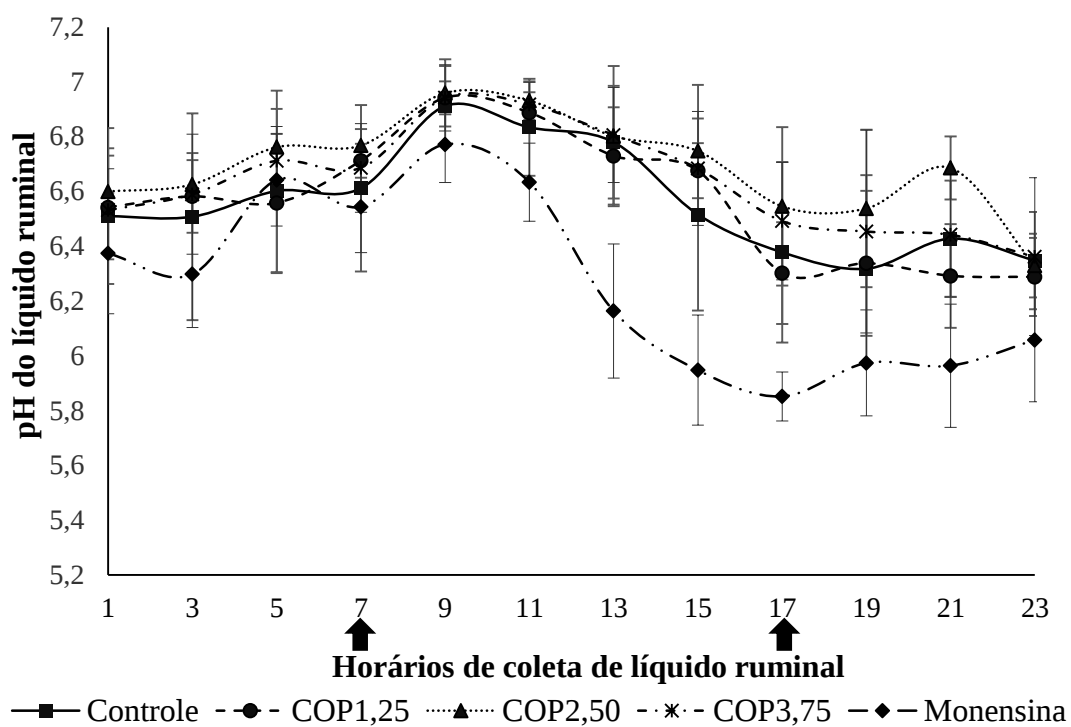


Figura 3 - Média dos valores de pH no rúmen de bovinos em diferentes horários de coleta recebendo diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica. Setas indicam o horário de fornecimento das dietas e as barras verticais representam o desvio padrão.

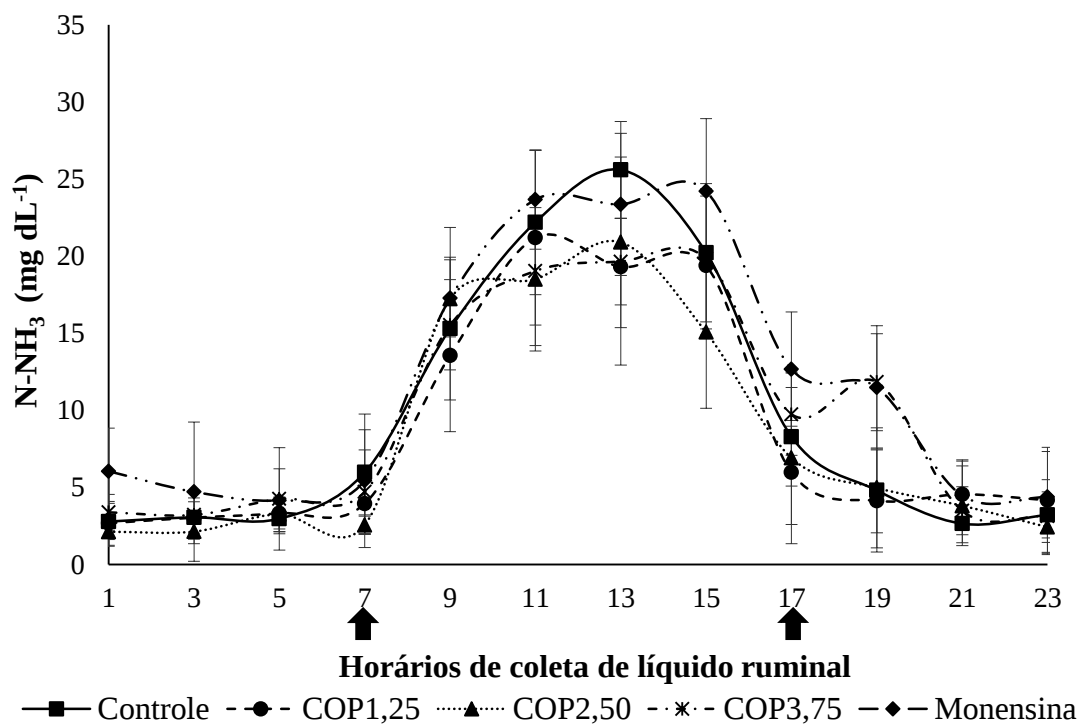


Figura 4 - Média dos valores de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) no rúmen de bovinos em diferentes horários de coleta recebendo diferentes níveis de óleo de copaíba ou monensina sódica. Setas indicam o horário de fornecimento das dietas e as barras verticais representam o desvio padrão.