

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

DESEMPENHO, COMPORTAMENTO E CARACTERÍSTICAS
DE CARCAÇA DE BOVINOS TERMINADOS EM
CONFINAMENTO COM ADIÇÃO DE ÓLEO DE CRAVO OU
DE CANELA NA DIETA

Autora: Mariana Garcia Ornaghi

Orientador: Prof. Dr. Ivanor Nunes Do Prado

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro – 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

DESEMPENHO, COMPORTAMENTO E CARACTERÍSTICAS
DE CARCAÇA DE BOVINOS TERMINADOS EM
CONFINAMENTO COM ADIÇÃO DE ÓLEO DE CRAVO OU
DE CANELA NA DIETA

Autora: Mariana Garcia Ornaghi
Orientador: Prof. Dr. Ivanor Nunes Do Prado

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá- Área de concentração: Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro – 2016

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"

O74d Ornaghi, Mariana Garcia, 1991-
Desempenho, comportamento e características de carcaça de bovinos terminados em confinamento com adição de óleo de cravo ou de canela na dieta / Mariana Garcia Ornaghi.-- Maringá, 2016.
63 f. : il.

Dissertação (mestrado em Zootecnia)--Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Zootecnia, 2016.
Orientador: Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado.

1. Bovino de corte - Nutrição - Aditivo alimentar - Óleo essencial de cravo e canela.
2. Bovino de corte - Confinamento. 3. Nutrição animal. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

CDD 23. ed. -636.2157
NBR/CIP - 12899 AACR/2



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

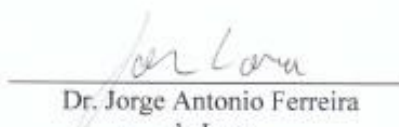
**DESEMPENHO, COMPORTAMENTO E
CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA DE BOVINOS
TERMINADOS EM CONFINAMENTO COM ADIÇÃO
DE ÓLEO DE CRAVO OU DE CANELA NA DIETA**


Autora: Mariana Garcia Ornaghi
Orientador: Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 16 de fevereiro de 2016.


Prof. Dr. Daniele Maggioni
Chefer


Dr. Jorge Antonio Ferreira
de Lara


Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado
(Orientador)

A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido e não na vitória propriamente dita.

(Mahatma Gandhi)

A Deus,

por guiar meus passos e me dar forças para seguir adiante.

À minha filha,

Ana Clara Ornaghi Bombarda.

Aos meus pais,

Emireno Ornaghi Junior (*in memorian*) e Marieti Garcia Ornaghi, que
esteve sempre ao meu lado.

À minha avó,

Maria Fernanda Garcia (*in memorian*).

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, os quais possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado, pela oportunidade, paciência, orientações e ensinamentos.

Ao meu grande amigo, José Carlos da Silva, por me aconselhar e estar sempre ao meu lado.

Aos professores do Departamento de Zootecnia e do programa de Pós Graduação em Zootecnia, que contribuíram para minha formação profissional.

Ao professor Carlos Sañudo Astiz, da Universidade de Zaragoza, pela contribuição ao trabalho.

Ao Vitor Hugo Bombarda, por estar presente em todos os momentos.

A toda minha família, em especial Angelo Heitor Ornaghi, Aurélio Garcia, Alberto Garcia, Silmara Garcia, Maria Auxiliadora Bombarda e Débora Oliveira, por toda compreensão e apoio.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi e da Universidade Estadual de Maringá, pelos serviços prestados para que o experimento fosse realizado.

Aos meus amigos, por me acompanharem nessa jornada.

Aos amigos do grupo de pesquisa, Juliana Akamine Torrecilhas, Camila Mottin, Rodrigo Augusto Cortez Passetti, Camila Barbosa Carvalho, Carlos Emanuel Eiras, Carlos Cesar Andreotti, Marisa Alves Pereira, Maribel Velandia Valero, Kenysson Alves de Souza, Tatiane Rogelio Ramos, Gustavo Gonçalves, Iara Desiree Vizotto, Danielle Algeri, Fernando Zawadzki, Kleverson Knop, Vinicius Barcellos, Dayane Cristina Rivaroli, Ana Flávia Pereira, Jessica Monteschio, Ana Carolina Vital, Érica Peron e, em especial, Ana Guerrero Barrado.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para minha formação, meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

Mariana Garcia Ornaghi, filha de Marieti Garcia Ornaghi e Emireno Ornaghi Junior, nasceu em 18 de outubro de 1991 em Maringá – Brasil.

Em 2013, concluiu o curso de Graduação em Zootecnia, pela Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2014, ingressou no Programa de pós Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual, em nível de Mestrado, área de concentração Nutrição e Produção animal, realizando estudos na subárea de Grandes Ruminantes de Corte. Em fevereiro de 2016, submeteu-se à banca examinadora para a defesa da presente Dissertação.

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA:.....	3
<i>Aditivos na dieta de ruminantes.....</i>	<i>3</i>
<i>Extratos vegetais na alimentação animal.....</i>	<i>3</i>
<i>Caracterização de óleos essenciais.....</i>	<i>4</i>
<i>Potencial antimicrobiano dos óleos essenciais.....</i>	<i>6</i>
<i>Óleos essenciais sobre a modulação ruminal.....</i>	<i>8</i>
<i>Efeito dos óleos essenciais no rúmen sobre os protozoários e fungos.....</i>	<i>9</i>
<i>Efeito dos óleos essenciais no rúmen sobre as bactérias.....</i>	<i>10</i>
<i>Óleos essenciais sobre a ingestão de alimentos e desempenho de bovinos.....</i>	<i>11</i>
<i>Uso dos óleos essenciais sobre o temperamento animal.....</i>	<i>12</i>
<i>Aditivos na dieta de ruminantes sobre as características de carcaça e qualidade da carne.....</i>	<i>144</i>
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
OBJETIVOS GERAIS II.....	15

CAPÍTULO III.....	22
Animal performance, behavior and carcass characteristics of young bulls finished in feedlot with addition clove or cinnamon essential oils in the diet.....	22
Abstract:.....	22
Introduction.....	23
Materials and Methods.....	24
Results.....	29
Discussion.....	30
Conclusion.....	35
References.....	36
IV CONSIDERAÇÕES FINAIS	51

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Table 1. Ingredients diets composition (% DM).....	43
Table 2. Chemical composition of diets (% DM).....	44
Table 3. Animal performance and feed intake of young bulls finished in feedlot with essential oils in the diet.	45
Table 4. <i>In vitro</i> digestibility of diets with essential oils fed by young bulls in feedlot. 46	
Table 5. Exit velocity of young bulls finished in feedlot with essential oils on the diet. 47	
Table 6. Chute score of young bulls finished in feedlot with essential oils on the diet.. 48	
Table 7. Effect of addition of essential oils in the diets on ingestive behaviour activities of young bulls finished in feedlot	49
Table 8. Carcass characteristics of young bulls finished in feedlot with essential oils in the diet.....	50

LISTA FIGURAS

	Página
CAPÍTULO I	
Figura 1. Fórmula estrutural de alguns compostos químicos presentes nos óleos essenciais: 1. Fenilpropanóides, 2. Monoterpenos., 3. Sesquiterpenos. Adaptado de Calsamiglia et al. (2007).	5
Figura 2. Mecanismo de ação antimicrobiana dos óleos essenciais na célula bacteriana (Burt, 2004).	7

RESUMO

No sistema de produção de bovinos em confinamento, é necessária a adição de compostos para auxiliar na modulação do rúmen. De modo geral, estas substâncias são ionóforos ou antibióticos. Todavia, essas substâncias estão proibidas na União Europeia e em via de proibição nos Estados Unidos. Desta forma, é necessário o desenvolvimento de substâncias alternativas não invasivas na alimentação animal. Assim sendo, as substâncias naturais tornaram-se os objetivos de várias pesquisas no mundo todo. Entre essas substâncias, os óleos essenciais têm merecido maior destaque. Todavia, para sua adição na alimentação animal é necessário caracterizar os vários produtos de plantas, bem como conhecer o modo de ação destas substâncias. Os óleos essenciais têm ação antimicrobiana, antioxidante, antiviral, entre outras ações. Ainda mais, os óleos essenciais têm uma ampla variedade de efeitos sobre a saúde, incluindo efeitos positivos sobre as doenças cardiovasculares, alguns tumores, os processos inflamatórios e, em geral, doenças nas quais ocorre uma proliferação descontrolada de radicais livres. O objetivo do estudo foi avaliar o desempenho animal, as características de carcaça, temperamento e comportamento ingestivo de 40 novilhos mestiços (½Pardo Suiço - ½Nellore) com $10 \pm 2,2$ meses de idade, peso corporal inicial médio de $219 \pm 11,7$, sem adição ou com diferentes níveis (3500 ou 7000 mg/dia/animal) de óleo essenciais de cravo ou canela. O período de confinamento foi de 187 dias. O desempenho animal foi significativamente maior para o grupo suplementado com óleo essencial de cravo (ambos os níveis) do que o grupo controle, sem suplementação. No entanto, para o óleo essencial de canela não foram observadas diferenças significativas entre as dietas. O consumo de matéria seca e outros nutrientes foram maiores para os novilhos suplementados com óleos essenciais na dieta do que o grupo controle e semelhantes

entre novilhos alimentados com óleos essenciais ou de qualquer nível de dosagem. Eficiência alimentar foi semelhante entre as cinco dietas, assim como a digestibilidade *in vitro*. Ainda assim, a adição de cravo ou canela essencial não alterou o temperamento e o comportamento ingestivo (tempo de ingestão de água, ruminação, alimentação e ócio) foi semelhante entre as dietas. O peso de carcaça fria foi maior para os grupos de cravo do que o grupo controle. No entanto, o peso da carcaça foi semelhante entre os novilhos suplementados com óleo essencial de canela. A percentagem de músculo, gordura e osso, marmoreio, espessura de gordura de cobertura, área de olho de lombo e pH₂₄ não diferiram entre as dietas. Os resultados indicam que os óleos essenciais podem melhorar o desempenho animal de novilhos terminados em confinamento submetidos à dieta alto concentrado, sem alterar as características de carcaça e comportamento animal.

Palavras-chave: cinamaldeído, confinamento, eugenol, extratos de plantas, novilhos.

ABSTRACT

In feedlot cattle production system it is required to add compounds to modulate the rumen fermentation. In general, these substances are antibiotics or ionophores. However, these substances are banned in the European Union and the United States can be banned soon. Thus the development of non-invasive alternative substances in feed is necessary. So, natural substances have become the targets of various researches on the whole world. Among these substances, essential oils have attracted the spotlight. However, for its addition in feed is necessary to characterize the various plant products, and to know the mode of action of these substances. Essential oils have antimicrobial action, antioxidant, and antiviral, among other actions. Furthermore, essential oils have a wide range of human health effects, including positive effects on cardiovascular diseases, certain tumors, inflammatory processes, and generally diseases in which there is an uncontrolled proliferation of free radicals. This study aimed to evaluate the animal performance, carcass characteristics, temperament and ingestive behavior of 40 crossbred young bulls ($\frac{1}{2}$ Brown Swiss - $\frac{1}{2}$ Nellore) 10 ± 2.2 month-old, average body weight of 219 ± 11.7 kg without addition or with different levels (3500 or 7000 mg/day/animal) of clove or cinnamon essential oils in the diets. The finishing period in feedlot was 187 days. Animal performance was significantly higher for the group supplemented with clove (both levels) than control group without supplementation. Dry matter feed intake and other nutrients were higher for young bulls supplemented with essential oils in the diets than control group and similar between young bulls fed any essential oils or dosage level. Feed efficiency was similar among five diets, as well as digestibility *in vitro*. Still, addition of clove or cinnamon essential oil did not alter temperament and ingestive behavior of young bulls. Time spent for water ingestion,

ruminating, feeding and idle was similar between diets. Cold carcass weight was higher for clove groups than control group. However, carcass weight was similar between young bulls supplemented with clove or cinnamon. Muscle, fat, bone percentages and fat thickness, marbling, *Longissimus* muscle area and pH₂₄ did not differ between diets. Results indicate that essential oils may improve animal performance of young bulls finished in high concentrate diets, without alter carcass characteristics and animal behavior.

Keywords: cinnamaldehyde, eugenol, feedlot, plant extracts, young bulls

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

O uso rotineiro de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação animal tem preocupado a saúde pública, que impõe restrições à utilização na alimentação animal (1831/2003; EC, 2003) (Benchaar et al., 2006). Essas restrições têm como base o princípio da precaução, que tem o objetivo de prevenir o desenvolvimento de microrganismos resistentes pelo uso inadequado desses produtos.

Entre os antibióticos, os ionóforos representam o grupo de substâncias mais utilizadas como moduladores da fermentação ruminal (Benchaar et al., 2006). Esses produtos são alternativas disponíveis no mercado para melhorar os índices zootécnicos, otimizando os sistemas de produção de bovinos de corte. Muitos resultados de pesquisas evidenciam que os ionóforos podem melhorar os mecanismos de digestão do rúmen, atuando sobre os produtos da fermentação ruminal, principalmente diminuindo a razão de acetato:propionato, disponibilizando mais energia para produção animal e também reduzindo a produção de gás metano e amônia, gases que representam perdas energéticas, acarretam desordens metabólicas prejudicando a saúde e produção animal, além de causar danos ao meio ambiente (Goodrich et al., 1984). Contudo, vemos a necessidade de estar substituindo essas substâncias por produtos que não deixam resíduos nos produtos de origem animal e atuem de maneira positiva no desempenho animal.

Os extratos naturais de plantas contêm uma ampla variedade de compostos com diferentes funções e mecanismos de ação, que se assemelham aos ionóforos. Esses atuam de forma específica, de acordo com sua estrutura química, ligando-se a sítios

específicos na célula bacteriana, acarretando na desintegração da membrana citoplasmática, alterando o fluxo de elétrons e coagulação do conteúdo celular (Burt, 2004).

Esses extratos são promissores como substitutos dos ionóforos atualmente utilizados, tornando-se necessário estudar adequadamente aspectos relacionados à composição química, especialmente quanto aos seus princípios ativos, à sua atividade biológica, ao modo de ação e à eficiência no sistema de produção, facilitando a sua adoção pelas cadeias produtivas. Dentre esses extratos, temos os taninos, saponinas, flavonoides, óleos essenciais, entre outros.

Os óleos essenciais (OE) são metabólitos secundários, que podem ser extraídos de várias partes de uma planta, incluindo folhas, flores, sementes, raízes e cascas (Benchaar et al., 2008). Os compostos secundários presentes nos óleos essenciais possuem propriedades antioxidante, antimicrobiana, analgésica, descongestionante, anestésica, fungicida, entre outras (Burt, 2004).

A propriedade antimicrobiana que os óleos essenciais apresentam é a partir da ação que exercem sobre os microrganismos, principalmente bactérias gram positivas. De acordo com Bergen e Bates (1984), os óleos essenciais melhoram a eficiência energética, devido à manipulação da flora bacteriana, conseqüentemente há uma maior produção de propionato, melhora na utilização de compostos nitrogenados, diminuindo as bactérias proteolíticas e reduzindo também a incidência de desordens ruminais, pois diminuem a produção de ácido lático.

Assim o objetivo de desenvolver esse trabalho foi avaliar o desempenho, característica de carcaça, comportamento ingestivo, temperamento animal, digestibilidade e característica de carcaça de animais alimentados com óleo essencial de cravo ou canela na dieta em dois níveis de inclusão, como aditivo substituto dos ionóforos.

REVISÃO DE LITERATURA:

Aditivos na dieta de ruminantes

Os ionóforos são antibióticos que aumentam a eficiência de utilização de alimentos utilizados na dieta de ruminantes (Goodrich et al., 1984, Russell & Strobel, 1989), pois atuam diretamente no rúmen como antimicrobiano, sendo assim vão agir nas trocas de sódio e prótons em nível de membrana celular microbiana, além de catalisar trocas de prótons e potássio, ocorrendo a lise bacteriana principalmente de bactérias gram positiva, as quais são as maiores produtoras de acetato, liberando H para produção de metano, além de serem maiores produtoras de amônia no rúmen.

Um dos ionóforos mais utilizados é a monensina, a qual reduz a produção ruminal de amônia pela inibição da população de bactérias gram-positivas, fermentadoras obrigatórias de aminoácidos e com alta capacidade de produção de amônia como, por exemplo, as espécies *Peptostreptococcus anaerobius* C, *Clostridium sticklandii* SR e *Clostridium aminophilum* (Chen et al., 1991).

Em uma revisão de pesquisas com grande número de animais, Goodrich et al. (1984) verificaram que a monensina melhora a eficiência alimentar de bovinos em confinamento em 7,5% e o ganho de peso de bovinos em pastagens em 13,5%. Esta melhora na eficiência é decorrente do aumento na eficiência de utilização dos alimentos, provocado, em parte, pela diminuição na produção de amônia ruminal e gás metano (Dinius et al., 1976, Van Nevel, 1991).

Extratos vegetais na alimentação animal

O uso rotineiro de antibióticos e promotores de crescimento na alimentação animal tem preocupado a saúde pública (Benchaar et al., 2006). As restrições impostas à utilização de antibióticos na alimentação animal têm como base preocupações ao desenvolvimento de microrganismos resistentes pelo uso inadequado de ionóforos, comprometendo a ação terapêutica dos antibióticos em humanos (Guzmán-Blanco et al., 2000, Russell & Houlihan, 2003, Dewulf et al., 2007, Ray et al., 2007). Em ruminantes, a inclusão de ionóforos na dieta tem como objetivo manipular a fermentação ruminal

para melhorar os processos benéficos (seleção das bactérias Gram negativas) e minimizar ou excluir processos ineficientes (produção de gás metano – CH₄ e gás carbônico – CO₂). De modo geral, a ação dos ionóforos nas bactérias gram-positivas modifica o fluxo de íons na membrana celular (Bergen & Bates, 1984, Russell & Strobel, 1989).

A ação de ionóforos sobre a população de bactérias gram-positivas (como exemplo: *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii* e *Clostridium aminophilum*) desempenha papel importante na fermentação de aminoácidos e na redução da produção de amônia ruminal (Russell & Wallace, 1997, Russell & Strobel, 1989). A seleção das bactérias gram-negativas está relacionada à dupla camada de membrana celular, constituídas por lipoproteínas e lipopolissacarídeos que impedem a passagem das moléculas da monensina (Russell & Wallace, 1997).

Dentre os compostos que apresentam características de ação antimicrobiana presentes nas plantas, encontramos a classe dos compostos fenólicos (fenóis simples – cetocol, ácidos fenólicos – ácido anacárdico, cinâmico, cafeico e ricinoleico, quinonas – hipericina, flavonóis – totarol, taninos – elagitanina, cumarinas – warfarin); óleos essenciais e terpenoides (capsaicina, thimol, mentol, carvacrol, cânfora, eugenol); alcaloides (berberina, piperina, teofilina); polipetídeos e lectinas (Manose-aglutinina, fabatina, thionina); e poliacetilenos (Heptadeca-dieno-diol), cada um com seu respectivo mecanismo de ação (Kubo et al., 1992, King & Tempesta, 1994, Perrett et al., 1995, Fernández et al., 1996, Stern et al., 1996, Cichewicz & Thorpe, 1996, Freiburghaus et al., 1996, Peres et al., 1997, Zhang & Lewis, 1997).

Compostos fenólicos determinam sua capacidade de atuar em função do grau de metoxilação e o número de hidroxilas para atuarem como agentes redutores contra o estresse oxidativo (Oldoni, 2007). O termo ácidos fenólicos é utilizado a fenóis associados a um ácido carboxílico funcional.

Caracterização de óleos essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são metabólitos secundários obtidos a partir da destilação a vapor de várias partes de uma planta (Gershenzon & Croteau, 1991). O termo "essencial" deriva da palavra "essência", o que significa cheiro ou gosto, e relaciona-se com a propriedade destas substâncias de fornecer sabores e odores específicos para muitas plantas. Eles são caracterizados por apresentar uma composição muito

diversificada, natureza e atividades diferentes. Os compostos são incluídos em dois grupos químicos: terpenoides (monoterpenoides e sesquiterpenoides) e fenilpropanoides. Estes grupos são originários a partir de dois diferentes precursores do metabolismo primário e são sintetizados por vias metabólicas diferentes (Figura 1).

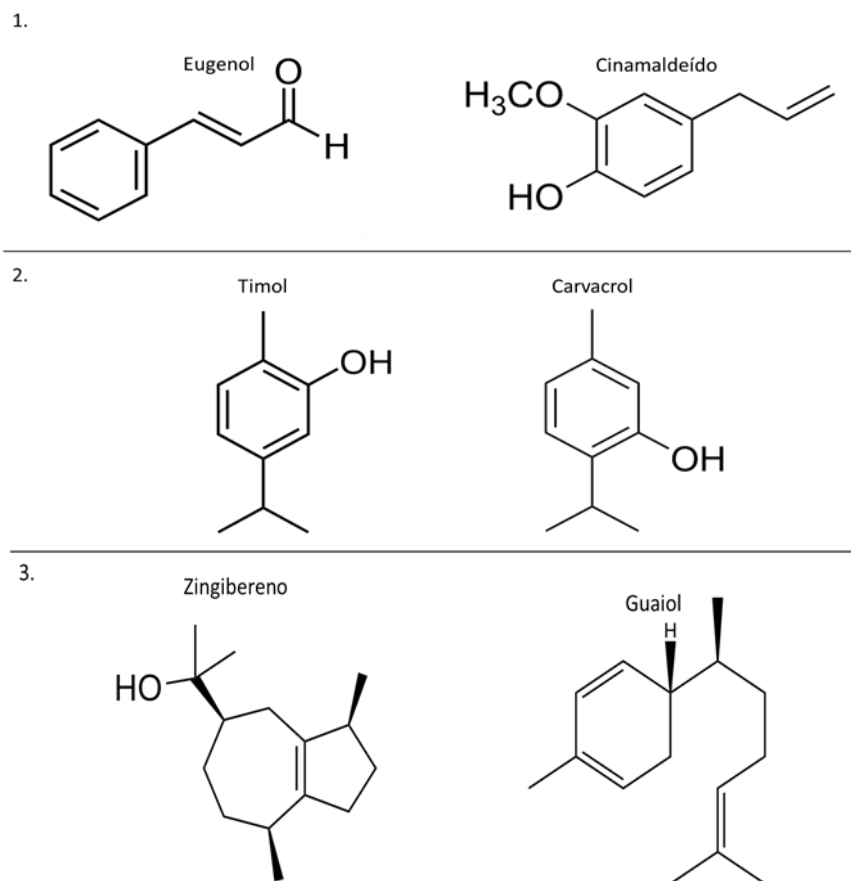


Figura 1. Fórmula estrutural de alguns compostos químicos presentes nos óleos essenciais: 1. Fenilpropanoides, 2. Monoterpenos., 3. Sesquiterpenos. Adaptado de Calsamiglia et al. (2007).

Os terpenoides são os mais numerosos e diversificados grupo de metabólitos secundários das plantas. Em torno de 15.000 compostos diferentes já foram descritos na literatura (Gershenzon & Croteau, 1991). Estes compostos são caracterizados como derivados de uma estrutura básica de cinco átomos de carbono (C_5H_8), normalmente chamado de unidade de isopreno, e são classificados de acordo com o número destas unidades no seu esqueleto. Dentre os terpenoides, os componentes mais importantes dos OE da maioria das plantas pertencem à família dos monoterpenos e sesquiterpenos (Gershenzon & Croteau, 1991).

Fenilpropanóides são OEs mais raros; mas algumas plantas têm esses compostos em proporções significativas. O termo "fenilpropanoide" refere-se aos compostos com uma cadeia de três átomos de carbono ligado ao anel aromático de seis carbonos. Os fenilpropanoídeos são originários principalmente da fenilalanina (um aminoácido (AA) aromático), sintetizado via chiquimatoque e funcional apenas em microrganismos e plantas (Sangwan et al., 2001).

Potencial antimicrobiano e antioxidante dos óleos essenciais

Os OEs têm uma ampla variedade de efeitos sobre a saúde, incluindo efeitos positivos sobre as doenças cardiovasculares, alguns tumores, processos inflamatórios, e em geral, doenças nas quais ocorre uma proliferação descontrolada de radicais livres (Harborne, 1999, Reddy et al., 2003, Trouillas et al., 2003). Estas propriedades dependem de sua capacidade de neutralizar radicais livres, inibir a peroxidação dos lipídeos nas membranas, quelatar os metais e estimular a atividade antioxidante das enzimas (Gutiérrez et al., 2003, Lee et al., 2003). As propriedades antisépticas de muitas plantas são conhecidas desde a antiguidade. Os chineses, por exemplo, começaram a usar plantas medicinais em terapias 5.000 anos atrás (3.000 a.C.), os egípcios usavam plantas para a conservação de alimentos e em cerimônias de mumificação (Davidson & Naidu, 2000). No entanto, a primeira prova científica descrevendo suas propriedades antimicrobianas apareceu no início do século 20 (Hoffmann & Evans, 1911).

Desde então, muitos compostos dos óleos essenciais com fortes atividades antimicrobianas foram estudados (Burt, 2004). Terpenoides e fenilpropanoídeos desenvolvem suas ações contra bactérias interagindo com as membranas celulares (Griffin et al., 1999, Davidson & Naidu, 2000, Dorman & Deans, 2000). Parte desta atividade é devido à natureza hidrofóbica dos hidrocarbonetos, o que lhes permite interagir com a membrana das células e se acumular na bicamada lipídica das bactérias, ocupando um espaço entre as cadeias dos ácidos graxos (Ultee et al., 1999). Esta interação provoca alterações na conformação das estruturas das membranas celulares, resultando em sua permeabilização e expansão (Griffin et al., 1999). A desestruturação da membrana altera a estabilidade das trocas de íons pela membrana da célula e provoca uma redução no gradiente de troca iônica na membrana (Figura 2).

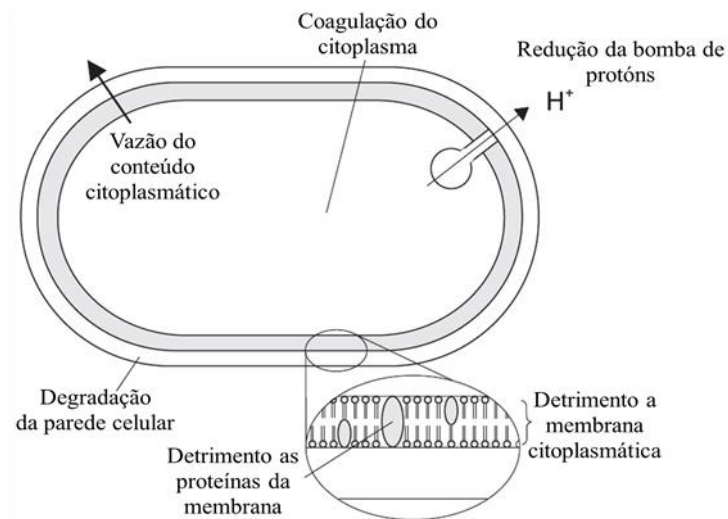


Figura 2. Mecanismo de ação antimicrobiana dos óleos essenciais na célula bacteriana (Burt, 2004).

Em alguns casos, as bactérias podem ser tolerantes a estes efeitos por meio de bombas iônicas e não ocorre a morte celular, mas grandes quantidades de energia são desviadas para esta função e o crescimento bacteriano é retardado (Griffin et al., 1999, Ultee et al., 1999, Cox et al., 2001). No contexto de fluxo contínuo, uma alteração nas taxas de crescimento resulta em mudanças na proporção da população bacteriana no rúmen, resultando numa mudança no perfil de fermentação.

Em geral, a atividade antimicrobiana mais elevada é em hidrocarbonetos cíclicos oxigenados, e particularmente em estruturas fenólicas tais como timol e carvacrol, em que o grupo hidroxila e os elétrons deslocados permitem a interação da membrana bacteriana pelas pontes de hidrogênio como o principal sítio ativo, tornando-as particularmente ativas contra microrganismos (Griffin et al., 1999, Davidson & Naidu, 2000, Dorman & Deans, 2000, Cox et al., 2001). Ultee et al. (2002) propuseram uma alternativa em que o grupo hidroxila do fenol atua como um transportador de cátions monovalentes e prótons pelas membranas, tais como os antibióticos e ionóforos.

Estes mecanismos de ação são mais eficazes contra as bactérias gram-positivas, em que a membrana da célula pode interagir diretamente com hidrofobicidade dos OEs (Chao et al., 2000, Cimanga et al., 2002). A parede celular externa em torno da membrana celular de bactérias gram-negativas é hidrofóbica e não permite a entrada de substâncias lipofílicas. A maioria dos compostos de óleos essenciais é lipofílica e não pode penetrar a membrana de bactérias gram-negativa (Cox et al., 2001, Cimanga et al., 2002). A membrana externa das bactérias gram-negativas não é completamente

impermeável e as moléculas de baixo peso molecular podem interagir pelas pontes de hidrogênio, e atravessar a parede celular lentamente por difusão através da camada de lipopolissacarídeos ou pelas proteínas de membrana, e interagir com a bicamada lipídica de células (Griffin et al., 1999, Dorman & Deans, 2000). Este é o caso para alguns compostos aromáticos como carvacrol.

O óleo essencial de alho é um caso especial, porque muitos compostos deste óleo não estão em todas as plantas, como no caso de outros óleos (Pentz & Siegers, 1996). Eles são ativos contra uma vasta gama de bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos, parasitas e vírus (Reuter et al., 1996). Vários mecanismos de ação têm sido sugeridos para explicar a sua atividade antimicrobiana, incluindo a inibição da síntese de RNA, DNA, e proteínas da célula (Feldberg et al., 1988). No entanto, o principal mecanismo antimicrobiano parece estar relacionado à sua capacidade de interagir com os grupos sulfídricos (-SH) de outros compostos ativos (Reuter et al., 1996).

Óleos essenciais sobre a modulação da microbiota ruminal

Hart et al. (2008) compilou uma série de estudos sobre os efeitos da adição de diversos óleos essenciais (OEs) (quimicamente definidos, mix comercial ou extratos naturais) sobre os parâmetros da fermentação ruminal. De modo geral, os resultados obtidos em cultura *in vitro* (batches) foram observados 24 horas após a incubação com líquido ruminal de animais não adaptados às dietas com OE. Conforme este estudo, altas doses (3000 e 5000 mg/L) de vários OE resultou na redução nas concentrações de amônia e ácidos graxos voláteis (AGVs), sugerindo um amplo espectro de ação bactericida; sendo que baixas concentrações tiveram pouco efeito.

Níveis de eugenol (300, 3000 e 5000 mg/L) reduziram a concentração de amônia em um sistema de cultura (Cardozo et al., 2005). Todavia, Castillejos et al. (2007) sugeriram que um estudo em curto espaço de tempo em batch poderia não ser suficiente para a ação total dos OE. Este resultado poderia estar relacionado à habilidade da microbiota a reduzir os componentes ativos dos OE em alcoóis inertes (Chizzola et al., 2004).

Talvez, o mais pesquisado destes produtos seja o CRINA® (Akzo Nobel, Gland, Switzerland). CRINA® é um mix patentado à base de mix de óleos essenciais (MOE) que inclui timol, eugenol, vanilina e limoneno. MOE altera a produção de AGVs e a degradabilidade do nitrogênio e amido no rúmen. Todavia, estes resultados são

complexos e divergentes. Assim sendo, Castillejos et al. (2007) observaram que a produção de AGVs não foi modificada 0 h após a alimentação de MOE, mas ela aumentou 3 horas após a alimentação em cordeiros. Da mesma forma, Newbold et al. (2004) observaram que 100 mg/dia de MOE apresentou uma tendência em estimular a produção de AGVs 6 horas após a alimentação em cordeiros; mas isso não foi observado nas duas primeiras horas após a alimentação.

Por outro lado, Beauchemin & McGinn (2006) não observaram efeito da adição de 750 mg/dia/animal de MOE sobre a produção de AGVs 4 horas após a alimentação. Da mesma forma, Castillejos et al. (2005, 2007) observaram efeito similar sobre a produção total de AGVs usando 5 mg/dia de MOE em fermentadores artificiais ruminais e sugeriam que o mix de óleos essenciais poderia seletivamente estimular a produção de acetato. MOE também reduz a degradação de proteína e amido incubados em sacolas de náilon no rúmen (Newbold et al., 2004, McEwan et al., 2002b). No entanto, não foi observado efeito sobre a degradação da fibra (Newbold et al., 2004).

Wallace et al. (2002) mostraram que o efeito de 100 mg/dia de MOE foi óbvio com uma degradação mais rápida da fonte de proteína e nenhum efeito sobre a degradação poderia ser observado relativamente em substratos com a farinha de peixe.

Efeito dos óleos essenciais no rúmen sobre os protozoários e fungos

No caso de protozoários, a ação se dá pela inibição de sistema enzimático dos mesmos (Michiles & Botsaris, 2005). Os óleos essenciais apresentam potencial defaunatório no rúmen, pois atuam na membrana plasmática dos protozoários alterando sua permeabilidade celular e, por fim, ocorrendo lise microbiana (Patra y Saxena, 2010).

Essa capacidade de ação vai depender da composição e nível utilizado, sendo capazes de serem misturados, atuando em sinergismo com outros óleos essenciais, mas também pode ocorrer um antagonismo entre os compostos presentes (Alves, 2010).

As mudança no perfil dos ácidos graxos voláteis é um dos principais efeitos na fermentação ruminal, com aumento na proporção de propionato e diminuição na relação acetato:propionato, assim como a redução na produção de metano.

Fadiño et al. (2008) testaram o extrato de anis e pimentão alimentando novilhas e recebendo dieta alto concentrado (10:90, volumoso:concentrado), e observaram uma redução na população de protozoários em relação ao tratamento controle. Em contraste,

quando o cinamaldeído foi avaliado por Yang et al. (2010), suplementando novilhos com doses de 400, 800 e 1600 mg/dia, não houve redução na população de protozoários como *Isotricha*, *Dasytricha* e *Entodinium* sp., isso porque a ação sobre os microrganismos varia de acordo com a quantidade e tipo de óleo essencial fornecido na dieta.

Benchaar et al. (2007) mostraram que não houve efeito da adição de 750 mg/dia de MOE para bovinos leiteiros (2.3 mg/L de líquido ruminal) sobre a contagem de protozoários determinada *in vivo*. Uma concentração de 100 mg/L de óleo e alecrim não teve efeito sobre a viabilidade de protozoários, mas uma redução na viabilidade de protozoários de 50, 90 e 90% foi observada em concentração relativamente alta, de 1.000, 10.000 e 40.000 mg/L, respectivamente (Rasmussem et al., 2005). No entanto, estes elevados níveis não são praticáveis em sistema de produção animal. Ainda, os efeitos dos OE sobre a viabilidade de protozoários no rúmen variam com o óleo testado, embora relativamente altas dosagens fossem necessárias para ter um efeito sobre os protozoários. McIntosh et al. (2003) observaram que um MOE em excesso (20 mg/L) reduziu o crescimento de fungos anaeróbicos *Neocallimastix frontalis*. Desta forma, serão necessários mais trabalhos sobre o efeito dos óleos essenciais e suas consequências sobre a contagem de fungos e modulação ruminal, fatores que influenciam na eficiência do desempenho animal.

Efeito dos óleos essenciais no rúmen sobre as bactérias

McIntosh et al. (2003) observaram que, em alguns casos, mas não em todos, culturas puras de bactérias poderiam adaptar seu crescimento na presença de MOE quando introduzidas de forma gradativa doses crescentes de óleos. No entanto, a extensão e adaptação das culturas expostas aos MOE foi pequena, com uma média de aumento de 0,8 vezes, sendo exigido para inibir 50% do crescimento bacteriano. Adaptação mais importante foi observada para *Lactobacillus casei*, os quais aumentaram 3 vezes a redução na sensibilidade das bactérias aos óleos essenciais (McIntosh et al., 2003). Todavia, a sensibilidade bacteriana é diferente aos MOE, sobre o crescimento de *Clostridium sticklandii*, com uma redução de 50% até uma concentração de 36 mg/L; enquanto que o crescimento de *Streptococcus bovis* não foi afetado até a concentração de MOE alcançar 240 mg/L.

O espectro de variação da sensibilidade das bactérias é até menor do que o espectro observado com ionóforos, como no caso da monensina (crescimento de *Eubacterium ruminantium* foi reduzido em 50% com adição de 0,03 mg/L; enquanto que a população de *Megasphaera elsdenii* não foi afetada pela concentração de monensina em até 16 mg/L, (Newbold et al., 1988). Realmente, quando MOE foi adicionado em altas dosagens (20 vezes mais do que o recomendado), toda a fermentação ruminal foi inibida, sugerindo que existe uma possível alteração dos efeitos seletivos sobre a microbiota ruminal quando há inclusão excessiva de óleos essenciais (Fernández et al., 1997).

Newbold et al. (2004) observaram efeito no rúmen de ovinos quando a concentração de MOE foi da ordem de 100 mg/dia, dividido em duas refeições; assumindo um volume de 10 L e uma taxa de passagem de 10%/hora e nenhuma degradação dos óleos essenciais.

Castillejos et al. (2007) observaram que uma cultura por um longo tempo em rúmen artificial (5 mg/L de MOE) aumentou a produção de AGVs e inibiu a deaminação das proteínas. No entanto, McIntosh et al. (2003) verificaram que o MOE teve efeito sobre a população bacteriana do rúmen somente quando as concentrações adicionadas foram entre 35 e 360 mg/L, concentração superior àquela que poderia ser alcançada *in vivo*. Castillejos et al. (2007) sugeriram que o rúmen necessita ser exposto aos óleos essenciais durante um período médio de dias (6 dias para o efeito na produção de AGV e até 28 dias para os efeitos no metabolismo do N para ser evidente), sugerindo que as alterações na população microbiana ocorrem de forma relativamente lenta, de acordo com as concentrações de óleos essenciais sendo baixa.

Óleos essenciais sobre a ingestão de alimentos e desempenho de bovinos

Os resultados observados sobre ingestão de alimentos e desempenho de bovinos alimentados com óleos essenciais dependem dos óleos essenciais utilizados, assim como das doses disponibilizadas (Patra, 2011). Fornecendo 250 mg/dia de óleo de orégano para cordeiros (Wang et al., 2009), 2 g/dia de óleo de pimenta (35% de α -pineno) para vacas (Yang et al., 2007), 0,75 ou 2 g/dia de um mix de óleos essenciais para vacas leiteiras (Benchaar et al., 2007, Benchaar et al., 2006) não foi observado efeito sobre a ingestão de alimentos.

No entanto, um mix de óleos essenciais de cinamaldeído (180 mg/dia) e eugenol (90 mg/dia) adicionados na dieta de bovinos de corte (Cardozo et al., 2006) e doses de cinamaldeído (500 mg/dia) para vacas de leite (Calsamiglia et al., 2007) reduziu de forma significativa a ingestão de alimentos. A redução na ingestão de alimentos poderia estar relacionada à palatabilidade dos óleos essenciais, sugerindo, assim, que estes produtos poderiam ser encapsulados para evitar tais problemas (Patra, 2011).

Por outro lado, a adição de óleo de pimenta (1 g/dia de extrato de capsicum, contendo 15% de capsaicin) em dieta com alto concentrado para bovinos de corte estimulou a ingestão de alimentos e a fermentação ruminal (Cardozo et al., 2006).

A correta dose de adição de óleos essenciais é um fator importante, porque baixas doses de óleos essenciais podem estimular a ingestão e altas doses pode inversamente reduzir a ingestão de alimentos pelos animais (Patra, 2011). Yang et al. (2010) observaram que cinamaldeído apresentavam melhor efeito em baixas doses (0,4 g/dia); enquanto que doses mais elevada (1,6 g/dia) não tiveram efeito sobre a ingestão de alimentos em bovinos.

A literatura é limitada sobre o efeito dos óleos essenciais e seus compostos sobre o desempenho de ruminantes. Bampidis et al. (2005) não observaram efeito sobre o ganho médio diário e eficiência alimentar quando cordeiros em crescimento foram alimentados com dietas contendo folhas de orégano, 144 ou 288 mg/kg de concentrado (85% de carvacrol). Da mesma forma, Benchaar et al. (2006) não observaram efeito sobre o ganho médio diário em bovinos de corte alimentados com uma dieta à base de silagem e com 2 ou 4 g/dia/animal de um mix de óleos essenciais à base de timol, eugenol, vanilina e limoneno como aditivos na dieta. No entanto, o mix de óleos essenciais apresentou um efeito quadrático sobre a eficiência alimentar, sendo que a dose 2 g/dia melhorou a eficiência alimentar comparando com a dose de 4 g/dia. Desta forma, a ação dos óleos essenciais sobre o desempenho animal poderia ser dose-dependente (Patra, 2011).

Uso dos óleos essenciais sobre o temperamento animal

O temperamento é uma combinação de particularidades de um indivíduo, que estão ligadas principalmente a características comportamentais tais como reações de excitabilidade ou inibição (Grandin, 1993). Essas reações comportamentais são muito variáveis para cada indivíduo, influenciadas pela genética, idade, sexo, manejo e

ambiente ao qual o animal está submetido (Burrow, 1998). Tais comportamentos podem acarretar certas consequências na produção animal, estresse, dificuldade do manejo, lesões na carcaça e conseqüentemente prejuízo de rendimento e perda na qualidade da carne, sendo todos esses fatores importantes na produção de bovinos, que podem causar impactos econômicos.

Os óleos essenciais e extratos de plantas são utilizados para tratamento de patologias mentais como uma técnica milenar. Nos dias atuais, com embasamento científico, esses compostos são empregados nos tratamentos de várias doenças (Bakkali et al., 2008). Os compostos presentes nos óleos essenciais exalam aromas que atuam sobre a cavidade olfatória, emitindo sinais para o centro superior cerebral e ocorrendo liberação de sinais para produção de endorfinas, provocando sensação de bem estar (Broughan, 2002). Em um estudo utilizando uma mistura comercial de extrato vegetal, o temperamento de animais criados em confinamento não foi afetado (Silva et al., 2010). Em contrapartida Gabbi et al. (2009) realizaram um experimento com uma mistura de óleos essenciais, flavonoides e mucilagens e observaram um menor comportamento excitado em novilhas leiteiras recebendo suplementação a pasto.

Ainda no campo do comportamento animal, pesquisadores estudando os fundamentos de aroma terapia (Alexander, 2002, Fujiwara et al., 2002) verificaram a atuação dos óleos essenciais no sistema nervoso. O uso desses óleos em humanos é conhecido como uma alternativa válida na substituição de psicotrópicos no tratamento de doenças mentais.

Entretanto, sua utilização em animais de produção ainda não está comercialmente disponível, bem como não está sendo avaliada em centros de pesquisa, de modo que essa alternativa ainda não é reconhecida na produção animal.

Por outro lado, dados sobre a ação dos óleos essenciais e produtos naturais no comportamento animal são quase inexistentes. Desta forma, será necessário o desenvolvimento de trabalhos de pesquisas nas áreas de comportamento animal, bem estar animal, interatividade entre as dietas com adição destes compostos diferenciados sobre a saúde animal e possíveis efeitos no desempenho animal e qualidade da carne.

Aditivos na dieta de ruminantes sobre as características de carcaça e qualidade da carne

Trabalhos realizados com óleos essenciais avaliando as características de carcaça e sensoriais na carne de ruminantes ainda são escassos. Chaves et al. (2008a) suplementaram cordeiros em confinamento com OE (cinamaldeído – canela, allicin – alho e α -pinene – *Juniperus communis*) à base de 200 mg/kg de matéria seca e observaram maior ganho de peso para os animais alimentados com os OE. No entanto, o peso de fígado e de rúmen, rendimento de carcaça, perda por gotejamento e cortes comerciais não foram alterados pela adição dos OE nas dietas.

Chaves et al. (2008b) não observaram efeito do tipo de grão (milho ou cevada) sobre o peso do fígado de cordeiros terminados em confinamento. No entanto, a adição de OE (carvacrol ou cinamaldeído, 0,2 g/kg de matéria seca) na dieta desses animais teve uma tendência ($P < 0,10$) em aumentar o peso do fígado em relação aos cordeiros do grupo controle. Um aumento no peso do fígado é sinal do envolvimento das ações bioquímicas dos OE, que ainda não estão muito bem elucidadas.

Fluharty et al. (1999) observaram um aumento no fígado de cordeiros suplementados com ionóforos na dieta (Lasolacida sódica) quando comparado ao grupo controle. Os órgãos viscerais podem ser afetados pela ingestão de matéria seca (Burrin et al., 1990), o que poderia explicar os resultados observados por Fluharty et al. (1999). Por outro lado, o peso do rúmen, rendimento de carcaça e perda por gotejamento não foram alterados pela adição de carvacrol ou cinamaldeído na dieta de ovinos em confinamento (Chaves et al., 2008b). A adição de cinamaldeído (100, 200 e 400 mg/kg de matéria seca) não tiveram nenhum efeito sobre o peso do fígado, rúmen, espessura de gordura de corte e rendimento de cortes nobre em cordeiros terminados em confinamento (Chaves et al., 2011). Da mesma forma, as análises sensoriais realizadas na carne (suculência, flavor, maciez e aceitabilidade geral) não foram alteradas pela inclusão de cinamaldeído na dieta de ovinos (Chaves et al., 2011).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander, M. 2002. Aromatherapy and immunity: how the use of essential oils aids immune potentiality. *International Journal of Aromatherapy*, 12, 49-56.
- Alves, Rodrigo da Silva. "Avaliação da atividade antimicrobiana entre óleos essenciais obtidos de folhas de manjeriço, pimenta de macaco e tomilho sobre patógenos veiculados por alimentos". Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical toxicology*, 46, 446-475.
- Bampidis, V. A., Christodoulou, V., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Spais, A. B. & Chatzopoulou, P. S. 2005. Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 121, 285-295.
- Benchaar, C., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Wang, Y., Beauchemin, K. A. & McAllister, T. A. 2007. Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science*, 87, 413-419.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, AV, Fraser, GR, Colombatto, D, McAllister, TA, Beauchemin, KA. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology* 145, 209-228.
- Benchaar, C., Duynisveld, J. L. & Charmley, E. 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 86, 91-96.
- Bergen, W. G. & Bates, D. B. 1984. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *Journal of Animal Science*, 58, 1465-1483.
- Beauchemin, K. A. & McGinn, S. M. 2006. Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. *Journal of Animal Science*, 84, 1489-1496.
- Broughan, C. 2002. Odours, emotions, and cognition – how odours may affect cognitive performance. *International Journal of Aromatherapy*, 12, 92-98.
- Burrin, D., Ferrell, C., Britton, R. & Bauer, M. 1990. Level of nutrition and visceral organ size and metabolic activity in sheep. *British Journal of Nutrition*, 64, 439-448.
- Burrow, H. M. 1998. The effects of inbreeding on productive and adaptive traits and temperament of tropical beef cattle. *Livestock Production Science*, 55, 227-243.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L. & Ferret, A. 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90, 2580-2595.

- Cardozo, P., Calsamiglia, S., Ferret, A. & Kamel, C. 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinamaldeído and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. *Journal of Animal Science*, 84, 2801-2808.
- Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A. & Kamel, C. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *Journal of Animal Science*, 83, 2572-2579.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. & Losa, R. 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 132, 186-201.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. & Losa, R. 2005. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Animal Feed Science and Technology*, 119, 29-41.
- Chao, S. C., Young, D. G. & Oberg, C. J. 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research*, 12, 639-649.
- Chaves, A. V., Dugan, M. E. R., Stanford, K., Gibson, L. L., Bystrom, J. M., McAllister, T. A., Van Herk, F. & Benchaar, C. 2011. A dose-response of cinamaldeído supplementation on intake, ruminal fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Science*, 141, 213-220.
- Chaves, A. V., Stanford, K., Dugan, M. E. R., Gibson, L. L., McAllister, T. A., Van Herk, F. & Benchaar, C. 2008a. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Science*, 117, 215-224.
- Chaves, A. V., Stanford, K., Gibson, L. L., McAllister, T. A. & Benchaar, C. 2008b. Effects of carvacrol and cinamaldeído on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 145, 396-408.
- Chen, G. J. & Russell, J. B. 1991. Effect of monensin and a protonophore on protein degradation, peptide accumulation, and deamination by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. *Journal of Animal Science*, 69, 2196-2203.
- Chizzola, R., Hochsteiner, W. & Hajek, S. 2004. GC analysis of essential oils in the rumen fluid after incubation of Thuja orientalis twigs in the Rusitec system. *Research in Veterinary Science*, 76, 77-82.
- Cichewicz, R. H. & Thorpe, P. A. 1996. The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum species*) and their uses in Mayan medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 52, 61-70.
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L. & Vlietinck, A. J. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 213-220.

- Cox, S. D., Mann, C. M. & Markham, J. L. 2001. Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 492-497.
- Davidson, P. M. & Naidu, A. S. 2000. Phyto-phenols. In: Naidu, A. S. (ed.) *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC - Press, Boca Raton, FL.
- Dewulf, J., Catry, B., Timmerman, T., Opsomer, G., de Kruif, A. & Maes, D. 2007. Tetracycline-resistance in lactose-positive enteric coliforms originating from Belgian fattening pigs: Degree of resistance, multiple resistance and risk factors. *Preventive Veterinary Medicine*, 78, 339-351.
- Dinius, D. A., Brokken, R. F., Bovard, K. P. & Rumsey, T. S. 1976. Feed Intake and Carcass Composition of Angus and Santa Gertrudis Steers Fed Diets of Varying Energy Concentration. *Journal of Animal Science*, 42, 1089-1097.
- Dorman, H. J. D. & Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.
- Duval, S. M., Wallace, R. J. & Newbold, C. J. 2006. Effect of essential oils on degradation of starch-rich substrates in a rumen simulating fermenter (RUSITEC). *Reproduction Nutrition et Devellopment*, 44, S93.
- Davidson, P. M. & Naidu, A. S. 2000. Phyto-phenols. In: Naidu, A. S. (ed.) *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC - Press, Boca Raton, FL.
- Fandiño, I, Calsamiglia, S, Ferret, A, Blanch, M (2008) Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Animal Feed Science and Technology* **145**, 409-417.
- Feldberg, R. S., Chang, S. C., Kotik, A. N., Nadler, M., Neuwirth, Z., Sundstrom, D. C. & Thompson, N. H. 1988. *In vitro* mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32, 1763-1768.
- Fernández, M. A., García, M. D. & Sáenz, M. T. 1996. Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *Scrophularia frutescens* and *Scrophularia sambucifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 53, 11-14.
- Fluharty, F. L., McClure, K. E., Solomon, M. B., Clevenger, D. D. & Lowe, G. D. 1999. Energy source and ionophore supplementation effects on lamb growth, carcass characteristics, visceral organ mass, diet digestibility, and nitrogen metabolism. *Journal of Animal Science*, 77, 816-823.
- Freiburghaus, F., Kaminsky, R., Nkunya, M. H. H. & Brun, R. 1996. Evaluation of African medicinal plants for their *in vitro* trypanocidal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 55, 1-11.
- Fujiwara, R., Komori, T. & Yokoyama, M. M. 2002. Psychoneuroimmunological benefits of aromatherapy. *International Journal of Aromatherapy*, 12, 77-82.
- Gabbi, A. M., Moraes, R. d. S., Skonieski, F. R. & Viégas, J. 2009. Desempenho produtivo e comportamento de novilhas submetidas a dietas com aditivo fitogênico. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 10, 949-962.
- Gershenzon, J. & Croteau, R. 1991. Terpenoids in herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites. In: Rosenthal, G. A. & Berenbaum, M. R. (eds.) *Terpenoids*. Academic Press, San Diego.

- Goodrich, R. D., Garrett, J. E., Gast, D. R., Kirick, M. A., Larson, D. A. & Meiske, J. C. 1984. Influence of monensin on the performance of cattle. *Journal of Animal Science*, 58, 1484-1498.
- Grandin, T. 1993. Behavioral agitation during handling of cattle is persistent over time. *Applied Animal Behaviour Science*, 36, 1-9.
- Griffin, S. G., Wyllie, S. G., Markham, J. L. & Leach, D. N. 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*, 14, 322-332.
- Gutiérrez, M. E., García, A. F., Madariaga, M. A., Sagrista, M. L., Casadó, F. J. & Mora, M. 2003. Interaction of tocopherols and phenolic compounds with membrane lipid components: evaluation of their antioxidant activity in a liposomal model system. *Life Sciences*, 72, 2337-2360.
- Guzmán-Blanco, M., Casellas, J. M. & Silva Sader, H. 2000. Bacterial resistance to antimicrobial agents in Latin America: The giant is awakening. *Infectious Disease Clinics of North America*, 14, 67-81.
- Harborne, J. B. 1999. An overview of antinutritional factors in higher plants. In: Caygill, J. C. & Mueller, H. (eds.) *Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding*. Nottingham Univ Press, UK.
- Hart, K. J., Yáñez-Ruiz, D. R., Duval, S. M., McEwan, N. R. & Newbold, C. J. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 147, 8-35.
- Hoffmann, C. & Evans, A. C. 1911. The use of spices as preservatives. *Industrial & Engineering Chemistry*, 3, 835-838.
- industry in ethnobotany, conservation and community reciprocity. *Ethnobotany and the search for new drugs*.
- Kubo, I., Muroi, H. & Himejima, M. 1992. Antibacterial activity of totarol and its potentiation. *Journal of Natural Products*, 55, 1436-1440.
- Lee, S. E., Hwang, H. J., Ha, J.-S., Jeong, H.-S. & Kim, J. H. 2003. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sciences*, 73, 167-179.
- McEwan, N., Graham, R., Wallace, R., Losa, R., Williams, P. & Newbold, C. 2002a. Effect of essential oils on protein digestion in the rumen. *Reproduction Nutrition Development*, 42, 65-65.
- McEwan, N., Graham, R., Wallace, R., Losa, R., Williams, P. & Newbold, C. 2002b. Effect of essential oils on ammonia production by rumen microbes. *Reproduction Nutrition Development*, 42, S65-S65.
- McIntosh, F. M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R. J., Beever, D. A. & Newbold, C. J. 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 5011-5014.
- Michiles, E., Botsaris, A.S. 2005. Medicamentos sintéticos e Fitoterápicos: potencialidades de equivalência. *Revista Fitos Eletrônica*, 1, 36-42.
- Newbold, C. J., McIntosh, F. M., Williams, P., Losa, R. & Wallace, R. J. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 114, 105-112.

- Newbold, C. J., Wallace, R. J., Watt, N. D. & Richardson, A. J. 1988. Effect of the novel ionophore tetronasin (ICI 139603) on ruminal microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 544-547.
- Oldoni, T. L. C. 2007. Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.
- Patra, A. K. 2011. Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. *Asian Journal of Animal Veterinary Advances*, 6, 416-428.
- Patra, A. K., & Saxena, J. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71, 1198-1222.
- Pentz, R. & Siegers, C. 1996. Methods for qualitative and quantitative assessment of their ingredients. *Garlic: the science and therapeutic application of Allium sativum L. and related species*. Baltimore: Williams & Wilkins, 109-134.
- Peres, M. T. L. P., Monache, F. D., Cruz, A. B., Pizzolatti, M. G. & Yunes, R. A. 1997. Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 56, 223-226.
- Perrett, S., Whitfield, P. J., Sanderson, L. & Bartlett, A. 1995. The plant molluscicide *Millettia thonningii* (Leguminosae) as a topical antischistosomal agent. *Journal of Ethnopharmacology*, 47, 49-54.
- Rasmussem, M., Franklin, S., McNeff, C. & Carlson, S. 2005. Control of pathogens using defaunation. *Proceedings of the Third International Conference on Enteric Diseases: Strategies in the Prevention of Enteric Disease and Dissemination of Food-Borne Pathogens*, Rapid City, South Dakota, USA.
- Ray, K. A., Warnick, L. D., Mitchell, R. M., Kaneene, J. B., Ruegg, P. L., Wells, S. J., Fossler, C. P., Halbert, L. W. & May, K. 2007. Prevalence of antimicrobial resistance among *Salmonella* on midwest and northeast USA dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 79, 204-223.
- Regulation, E. C. (2003). Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 Sep. 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union L*, 268.
- Reuter, H. D., Koch, H. P. & Lawson, L. D. 1996. Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. *The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species*, 1996, 135-212.
- Reddy, L., Odhav, B. & Bhoola, K. D. 2003. Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacology & Therapeutics*, 99, 1-13.
- Russell, J. B. & Houlihan, A. J. 2003. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS Microbiology Reviews*, 27, 65-74.
- Russell, J. B. & Strobel, H. J. 1989. Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 1-6.
- Russell, J. B. & Wallace, R. J. 1997. *Energy-yielding and energy-consuming reactions*. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. Springer.
- Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F. & Sangwan, R. S. 2001. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, 34, 3-21.

- Silva, R. R., Prado, I. N., Carvalho, G. G. P., Silva, F. F., Almeida, V. V. S., Santana Júnior, H. A., Paixão, M. L. & Abreu Filho, G. 2010. Níveis de suplementação na terminação de novilhos Nelore em pastagens: aspectos econômicos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 2091-2097.
- Stern, J. L., Hagerman, A. E., Steinberg, P. D. & Mason, P. K. 1996. Phlorotannin-protein interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 22, 1877-1899.
- Trouillas, P., Calliste, C.-A., Allais, D.-P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C. & Duroux, J.-L. 2003. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chemistry*, 80, 399-407.
- Ultee, A., Bennik, M. H. J. & Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1561-1568.
- Ultee, A., Kets, E. P. W. & Smid, E. J. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 4606-4610.
- Van Nevel, C. J. 1991. Modification of rumen fermentation by the use of additives. In: Jouany, J. P. (ed.) *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*. INRA, Paris.
- Wallace, R. J., McEwan, N. R., McIntosh, F. M., Teferedegne, B. & Newbold, C. J. 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 15, 1458-1468.
- Wang, C. J., Wang, S. P. & Zhou, H. 2009. Influences of flavomycin, ropadiar, and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation, and methane emission from sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 148, 157-166.
- Yang, W. Z., Benchaar, C., Ametaj, B. N. & Beauchemin, K. A. 2010. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal fermentation and intestinal digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 158, 57-64.
- Yang, W. Z., Benchaar, C., Ametaj, B. N., Chaves, A. V., He, M. L. & McAllister, T. A. 2007. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 5671-5681.
- Zhang, Y. & Lewis, K. 1997. F abatins: new antimicrobial plant peptides. *FEMS Microbiology Letters*, 149, 59-64.

II - OBJETIVOS GERAIS

Objetivou-se avaliar o desempenho, temperamento, comportamento ingestivo, digestibilidade *in vitro* e característica de carcaça de novilhos mestiços (½ Pardo Suíço – ½ Nelore) terminados em confinamento, suplementados com óleo essencial de cravo (*Eugenia caryophyllus*) e canela (*Cinnamom zeylanicum*) em dieta alto grão.

CAPÍTULO III

Animal performance, behavior and carcass characteristics of young bulls finished in feedlot with addition clove or cinnamon essential oils in the diet

Abstract:

This study aimed to evaluate the animal performance, carcass characteristics, temperament and ingestive behavior of 40 crossbred young bulls (½Brown Swiss-½Nellore) 10 ± 2.2 month-old, average body weight of 219 ± 11.7 kg without addition or with different levels (3500 or 7000 mg/day/animal) of clove or cinnamon essential oils in the diets. The finishing period in feedlot was 187 days. Animal performance was significantly higher for the group supplemented with clove (both levels) than control group without supplementation. Dry matter feed intake and other nutrients were higher for young bulls supplemented with essential oils in the diets than control group and similar between young bulls fed any essential oils or level of dosage. Feed efficiency was similar among five diets, as well as digestibility *in vitro*. Still, addition of clove or cinnamon essential oil did not alter temperament and ingestive behavior of young bulls. Time spent for water ingestion, ruminating, feeding and idle was similar between diets. Cold carcass weight was higher for clove groups than control group. However, carcass weight was similar between young bulls supplemented with clove or cinnamon. Muscle, fat, bone percentages and fat thickness, marbling, *Longissimus* muscle area and pH₂₄ did not differ between diets. Results indicate that essential oils may improve animal performance of young bulls finished in high concentrate diets, without alter carcass characteristics and animal behavior.

Keywords: cinnamaldehyde, eugenol, feedlot, plant extracts, young bulls

Introduction

Antibiotics are commonly provided for animals to prevent diseases and metabolic disorders and to improve feed efficiency (Bergen and Bates 1984; Russell and Strobel 1989). However, in the recent years public concern on routine use of antibiotics in livestock nutrition has increased due to the emergence of antibiotic resistant-bacteria that could represent risks to human health (Russell and Houlihan 2003). Consequently, considerable efforts have been employed towards the development of alternatives products to antibiotics (Zawadzki *et al.* 2011a; Zawadzki *et al.* 2011b; Cruz *et al.* 2014). Plant extracts offer an opportunity in this regard (Zhang *et al.* 2010; Jayasena and Jo 2013), since several plants produce secondary metabolites with antimicrobial properties (Kim *et al.* 2013).

These compounds have shown to modulate rumen fermentation and improve nutrient utilization in ruminants (Benchaar *et al.* 2008; Hristov *et al.* 2008; Geraci *et al.* 2012). Due to the growing tendency of addition of growth promoters, such as antibiotics, in 2006 the European Union banned the use of those products from the precautionary principle basis that the bacteria would be getting resistance and cause problems for human health (OJEU 1831/2003/EC). Essential oils are considered potential natural substitutes, promoting improvement on performance and feed efficiency, and preventing future health damage on consumers. Since facts encourage the researches and use of this kind of products, recently large companies are forcing failure to use these products and prioritizing animal welfare.

Additives like essential oils are alternatives to optimizing beef cattle production systems. The additives improve rumen digestion by changing the rumen fermentation, thus the energy losses by methane gas production are reduced and acetate:propionate ratio is improved (Russell and Strobel 1989). The use and effects of essential oils and their components on ruminal fermentation have been previously study by several researchers (Busquet *et al.* 2005; Cardozo *et al.* 2005; Benchaar *et al.* 2008; Cruz *et al.* 2014; Valero *et al.* 2014a; Valero *et al.* 2014b). However, cattle performance *in vivo* is scarce studied respect to *in vitro* research. In a study comparing monensin with essential oils Geraci *et al.* (2012) greater efficiency was found for the essential oils.

Volatile and odorant compounds from essential oils have an activity in temperament of animals, working in the nostrils releasing signals to the central nervous system, releasing endorphins that cause animal welfare feeling (Broughan 2002).

The main compounds present on clove essential oil (*Eugenia caryophyllus*) are eugenol, caryophyllene and acetate of eugenila, and on cinnamon essential oil (*Cinnamon zeylanicum*) are cynamaldehyde, benzaldeide, cinamic alcohol and cumarina (Biondo *et al.* 2016). The eugenol and cinnamaldehyde are ones of the most important aromatics compounds widely used in human medicine with a potent antioxidant power, antibacterial and fungicidal potencial; therefore, they have a great ability to modify the microbial fermentation in the rumen (Hart *et al.* 2008).

This work was performed to evaluate the animal performance, carcass characteristics, temperament and ingestive behavior of young bulls finished in feedlot with high-concentrate diets and supplemented with essential oils from clove (eugenol) and cinnamon (cynamaldehyde).

Materials and Methods

Ethic committee and local

This experiment was approved by Department of Animal Production and Research Ethic Committee at the State University of Maringá and it followed the guiding principles of biomedical research with animals n° 081/2014 (CIOMS/OMS 1985), and the study was carried out at the Rosa & Pedro Sector, State University of Maringá, Experimental Farm Station at Iguatemi city, Paraná, Brazil South.

Animals and diets

A total of 40 (½Brown Swiss - ½Nellore) young bulls (half-brothers) with 10 ± 2.2 month-old and 219 ± 11.7 kg of body weight (BW) were used in a complete randomized design. Animals were weighed in the beginning of experiment and assigned to individual pens with 10 m^2 , partially covered and with concrete floors. The young bulls were distributed into five treatments according to initial BW. Before the beginning of the experiment, animals were adapted for two weeks in individual pens and the concentrate was supplied gradually. Excreta were collected to analyses of EPG (eggs per gram) of helminthiques, following the method described by Gordon (1930). The

results were analyzed, and only animals with high and moderated parasite infestation were treated with anti helminthiques (Cydectin– Moxidectina 1%, Zoetis). Bulls were weighed in the beginning of experiment and every 28 days at the trunk-balance (Beckehauser Cia Paranavaí city, Paraná, Brazil South).

The basal diet was consisted 90% of concentrate and 10% of pellets cane sugar (Table 1) was offered *ad libitum* for 187 days, and the feed intake was recorded daily. The basal diet was the same for all animals, formulated to be isonitrogenous and isoenergetics (Tables 2) according to NRC (2000). The five experimental diets were: CON – without essential oils, CLO35 – inclusion of 3500 mg of essential oil of the leaf clove for animal and day, (370, 58, 5.69 eugenol, carophylenne and eugenyl acetate mg/kg of dry matter/animal/day), CLO70 – inclusion of 7000 mg of essential oil of the leaf clove for animal and day, (740, 116, 11.38 eugenol, carophylenne and eugenyl acetate mg/kg of dry matter/animal/day), CIN35 – inclusion of 3500 mg of essential oil of the leaf cinnamon for animal and day (350, 21, 14.35 cynamaldheyde, carophylenne and α -pinene mg/kg of dry matter/animal/day), and CIN70 – of inclusion 7000 mg of essential oil of the leaf cinnamon for animal and day (700, 42, 28.7 cynamaldheyde, carophylenne and α -pinene mg/kg of dry matter/animal/day). The clove essential oils contains 84.5, 13.3 and 1.3% of eugenol, carophylenne and eugenyl acetate, respectively, and cinnamon essential oils contains 78.8, 4.7 and 3.2% of cynamaldheyde, carophylenne and α -pinene, respectively, as determined by Biondo *et al.* (2016) using the gas chromatography-mass spectrometry. The essential oils were obtained from FERQUIMA[®] (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brazil) and stored at + 4°C. The essential oils had a liquid texture and were mixed with the feed from concentrate in a commercial mixer every two weeks, where diets were prepared. So, the inclusion of essential oils was made every 15 days, adjusting the inclusion according to the intake of dry matter/day per animal, in order to keep constant the dosage for animal and day. Essential oils were added to feed mixer with another ingredients to diet. It was reviewed by the ORAC method (Oxygen Radical Absorbance Capacity) as reported by Zulueta *et al.* (2009) that the antioxidant power of essential oils in the diet, and it was not lost for up to 30 days of exposure.

Chemical analyses

Dry matter (DM) content of ingredients was determined by oven-drying at 65 °C for 24 h. Analytical DM content of oven-dried samples was determined by drying at 135 °C for 3 h (AOAC 2005) (Method 930.15). The organic matter (OM) content was calculated as the difference between DM and ash contents, with ash determined by combustion at 550°C for 5 h. Content of N in the samples was determined by the Kjeldahl method AOAC (2005) (Method 976.05). The neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) contents were determined using the methods described by Van Soest *et al.* (1991) with heat stable alpha amylase and sodium sulfite used in the NDF procedure, and expressed inclusive of residual ash. Antioxidant power of the ration (ORAC method – Oxygen Radical Absorbance Capacity) assay was performed as described by Zulueta *et al.* (2009).

Digestibility trial

The digestibility of dry matter (DMD) was obtained using the method described by Tilley and Terry (1963) using an artificial rumen, developed by ANKOM®. For the rumen fluid collection cow with ruminal fistula were used, weighing about 550 kg. The feed supplied to the animals consisted of the diet shown in Table 1, in which a 14-day period was used for the adaptation of animals to food. The samples used in DMD were triturated in 1.0 mm sieve, which were weighed in duplicate, approximately 0.5 g of MS in nylon filter bags (F57 - ANKOM®) with the dimensions of 6.0 x 6.0 cm mesh and 30 µm, sealed and incubated in a jug in DAISYII machine, being 25 bags per vial. In each vial 1332 ml of buffer A1 and 268 ml of B2 buffer were added to obtain a final pH of 6.8 at 39° C, and CO₂ was added to maintain anaerobic conditions. After 30 minutes, 400 ml of filtered rumen fluid was added, that was previously kept in water bath at 39 °C and without oxygen. The bottles with samples remained in the incubator for 48 h under constant stirring, and after 24 h of incubation were added to 8 g of pepsin (1:10,000) and 40 ml of 6N HCl. After 48 h of analysis the flasks were drained and the bags with samples were washed with distilled water at ambient temperature for two consecutive times, and a slight pressure was added on the sample to remove the gas of bags and dried in an oven at 100 °C for 24 h. After this, the bags with samples were opened and part the sample was collected to proceed the crude protein analysis and then determine the digestibility of crude protein. The bags were sealed again to analyze the

NDF digestibility, this same were boiled in a neutral detergent solution (TE-149, Tecnal, SP, Brazil). The *in vitro* digestibility of DM was obtained from the calculation [(weight of DM incubated – weight of DM residual) / weight of DM incubated], the *in vitro* digestibility of crude protein (CP) [(weight of CP incubated – weight of CP residual) / weight of CP incubated] and the *in vitro* digestibility of NDF [(weight of NDF incubated – weight of NDF residual) / weight of NDF incubated] were estimated.

Animal temperament

Temperament was evaluated calculating chute score and exit score. Chute score was assessed based on a 5-point scale where: 1= calm with no movement; 2= restless movements; 3= frequent movement with vocalization; 4= constant movement, vocalization, shaking of the chute; and 5= violent and continuous struggling (Arthington *et al.* 2008). Exit velocity was assessed by determining the speed of the steer exiting the squeeze chute by measuring rate of travel over a 2m distance with an infrared sensor (FarmTek Inc., North Wylie, TX). This analyses was recorded every 28 days combined with de weighing and divided in six periods.

Ingestive behavior activities

The young bulls were subjected to two full periods of 24 hours of visual observation at five minutes intervals, totaling 288 observations, according to the methodology described by Silva *et al.* (2006). At night, the ambient received artificial lighting. The water ingestion, feeding, ruminating and idle values were obtained by the total sum of each replicate (minutes/day).

Carcass measurements and meat sampling

At day 187 of feedlot the animals were weight after 16 hours of fasting (487 ± 31.9 kg), and transported to a commercial slaughterhouse (Arapongas city, Paraná, Brazil south). Truck stocking density was 0.8 ± 0.2 bulls/m², and transport distance was less than 60 km. The young bulls were slaughtered following the usual practices of the Brazilian beef industry. The animals were stunned using a captive-bolt pistol. Next, they were bled through exsanguinations by cutting the neck vessels, and removal of the head, hide, viscera, tail, legs, diaphragm and excess internal fat. Afterwards, the carcasses were divided medially from the sternum and spine, resulting in two similar halves, which

were weighed to calculate hot carcass weight. Next, the half-carcasses were washed, identified and stored in a chilling chamber at + 4°C, where they remained for a 24-h period. After chilling, the right side of the carcass was used to determine the quantitative and qualitative characteristics of the *Longissimus* muscle (LM). LM samples were retrieved by complete cross-section from 6th to 13th ribs. They were immediately delivered to the laboratory and frozen at -20°C for later analysis.

Cold carcass weight was determined after the slaughter and after the carcass was chilled. Cold carcass dressing (CCD) percentage was defined as the cold carcass weight divided by the final body weight 14 hours before slaughter, and calculated by applying the following equation: $CCD = (CCW / BW) \times 100$, where CCW = cold carcass weight, FBW = final body weight.

Meat characteristics measurements

The fat thickness was measured at 24 h *post mortem* on subcutaneous fat from the 12th rib after a cross-section in the LM with a digital caliper model reading accuracy of 150mm / 6 "0.01 mm (King tools, São Paulo - Brasil). The LM was measured with a tracing made on the right side of carcass; a transversal cut between the 12th and 13th ribs exposed the *Longissimus* muscle and was excised from carcass. Next, a compensating planimeter, an instrument that measures the area of irregularly shaped objects, was used to determine the area. Marbling was measured on the LM from the 12th rib using the Brazilian scoring system (18 to 16 – abundant, 15 to 13 – moderate, 12 to 10 – mean, 9 to 7 – small, 6 to 4 – light, and 3 to 1 – traces). Hydrogen potential (pH) was determined with a pH meter (Hanna instruments model HI99163, Romaria–Brasil); the electrode was calibrated and inserted in the muscle between the 12th and 13th ribs after the carcass was chilled for 24 hours.

Tissue carcass composition was determined by the physical separation of the components (muscle, fat, bone and other tissues) from the 6th rib, calculating the percentage of each one represent according to Robelin and Geay (1975).

Statistical analyses

Animal performance, digestibility, ingestive behavior and carcass characteristics were assessed via analysis of variance using general linear model (GLM) procedures with SPSS (v.15.0) (IBM SPSS Statistics, SPSS Inc., Chicago, USA.) for Windows. In all statistics analyses diet were considered as fixed effect. For temperament, period was also considered as fixed effect, calculating the interaction between both factors (period and diet). Mean and standard error of means (SEM) were calculated for each variable. Differences between means were evaluated using Duncan test ($P \leq 0.05$).

Results

Animal performance, feed intake and feed efficiency

Final body weight (FBW) and average daily gain (ADG) were significantly higher ($P < 0.03$) on CLO35 and CLO70 diets in relation to control (CON) diet (Table 3). Cinnamon diets (CIN35 and CIN70) presented intermediaries values which did not differ from the CLO and CON diets, but it was observed a tendency to be greater ($P = 0.07$) than control treatment.

On the other hand, dry matter intake and other nutrients (crude protein, neutral detergent fiber, acid detergent fiber and total digestible nutrient) were higher ($P < 0.03$) on any diets supplemented with essential oils in relation to control (Table 3). However, feed efficiency was similar ($P = 0.24$) for the five diets (Table 3).

In vitro digestibility trial

The addition of essential oils in the diet for young bulls had no effect on dry matter ($P = 0.34$), crude protein ($P = 0.46$) and neutral detergent fiber ($P = 0.17$) at *in vitro* digestibility (Table 4).

Animal temperament

Exit velocity and chute score were not affected by essential oils addition in the diets (Table 5 and 6, respectively). The same variables were analyzed also for six periods (each 28 days). Exit velocity was similar among six periods. However, chute score was higher ($P < 0.02$) only to bulls fed CON diet in the first period compared to other

periods. The young bulls that received essential oils in the diets presented similar chute score through six periods (Table 6).

Ingestive behavior activities

Water ingestion, ruminating, feeding and idle times were not affected ($P > 0.05$) by essential oils addition (Table 7).

Carcass characteristics

Cold carcass weight (Table 8) was greater ($P = 0.03$) for treatments with clove oil (CLO35 and CLO70) than treatment without added oil (CON). Treatments with cinnamon (CIN35 and CIN70) did not differ from the other treatments ($P > 0.05$), following the same tendency showed on animal performance results. Significant differences were not observed in cold carcass yield or chilling losses ($P = 0.69$). Carcass composition from the 6th rib did not differ ($P > 0.05$) between diets, presenting all diets a similar percentage of muscle, fat, bone and other tissues. Fat thickness, marbling, area of *Longissimus muscle* or pH 0 h and 24 h did not differ between treatments.

Discussion

Animal performance, feed intake and feed efficiency

Natural additives have potential to modulate rumen fermentation and improve animal performance (Fandiño *et al.* 2008; Geraci *et al.* 2012). Also, essential oils can be used as natural product with no problems such as those that ionophores and growth promoters face on beef cattle production (Russell and Houlihan 2003). In the present study, animal performance was improved by the addition of 3500 or 7000 mg/animal/day of clove and cinnamon in the diets. Final BW and ADG were significantly higher for those young bulls supplemented with essential oils (CLO). Valero *et al.* (2014a) reported that crossbred bulls supplemented with 3g/animal/d of cashew and castor essential oils had higher FBW and ADG than those fed a control diet or supplemented with propolis, which is another natural rumen modulator. According to Calsamiglia *et al.* (2007), the inclusion of a mix of several essential oils in ruminant diets may improve animal performance by modulating the rumen microbiome. Results of this study could be explained by the synergism of compounds in the rumen, as the

inclusion of natural additives can improve animal performance and feed efficiency (Benchaar *et al.* 2008; Geraci *et al.* 2012).

Data in the literature regarding the use of essential oils as additives on cattle diets are scarce. However, the existent data show a high variation between the results of the diverse additives included in the diets of ruminants (Benchaar *et al.* 2008; Zang *et al.* 2010). The improvement of animal performance with the addition of essential oils in the diet can be explained by the antimicrobial activity of essential oils compounds (Kim *et al.* 2013). Others authors (Benchaar *et al.* 2008; Hart *et al.* 2008) have shown that plant extracts may be useful alternatives to antibiotics because many plants produce secondary metabolites, such as saponins and tannins that have antimicrobial properties. Similarly, the well-documented antimicrobial activity of essential oil active components has prompted a number of researchers to examine the ability of these secondary metabolites to manipulate rumen microbial fermentation (Calsamiglia *et al.* 2007; Hart *et al.* 2008; Hristov *et al.* 2008; Jayasena and Jo 2013).

Diets with high grain tend to present lower ruminal pH making it more acid medium, which enhances the action of essential oils (Calsamiglia *et al.* 2007). Thus, the eugenol and cinnamaldehyde present in the essential oil of cloves and cinnamon, respectively, reduces the ratio of acetate:propionate, decreases the production of methane, reducing inefficient energy expenditure. This occurs by the rumen defaunation (protozoa) and consequently *Archeas* (methanogenic) which live in symbiosis with these microorganisms (McIntosh *et al.* 2003; Newbold *et al.* 2004). In a study done by Yang *et al.* (2010b) providing eugenol doses (0, 400, 800, 1600 mg/day/ animal) in the diet of growing beef cattle, it was reported an increase of propionate and a linear decrease of acetate: propionate ratio.

In the current study, DMI increased when clove or cinnamon oils were supplemented in the diets. However, feed efficiency was similar with or without clove and cinnamon addition in the diets. Fandiño *et al.* (2008) observed increases on dry matter intake when essential oils (anise) was supplemented (500 mg/day) as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed high concentrate diet, but not on feed efficiency. However, Bampidis *et al.* (2005) observed no changes in DM intake and feed efficiency when growing lambs diets were supplemented with oregano leaves (*Origanum vulgare* L.) providing 144 or 288mg of oregano oil (850 mg/g of carvacrol) per kilogram of DM. Similarly, testing a variety of flavours including garlic on high and moderate quality forage diets to fed lambs, Distel *et al.* (2007) did not find

any effect on intake when flavours were included. Similarly, Beauchemin and McGinn (2006) did not observe effect on feed intake when beef cattle were supplemented with 1 g/day of the EO compounds mixture (Crina Ruminants; Akzo Nobel Surface Chemistry S.A., Cedex, France; 1 g/d), consisting a diet on 75% whole-crop barley silage, 19% steam rolled barley, and 6% supplement protein, minerals and vitamins (DM basis). Chaves *et al.* (2008); Chaves *et al.* (2011) also reported no change in DMI in lambs supplemented with carvacrol, cinnamaldehyde and juniper berry at different concentrations.

In vitro digestibility trial

Information available about the effect of essential oils addition on ruminants digestion is very limited. The dry matter digestibility averaged in the five treatments 76%, crude protein 72% and neutral detergent fiber 39%. Thus, the essential additions in the ruminants diets did not change the digestibility of dry matter between diets. Our results are in agreement to those from Valero *et al.* (2014a), who observed apparent digestibility close to the values observed in this study in bulls finished in feedlot, supplemented with essential oils 3g/animal/day (ricinoleic acid extracted from castor oil seed and anacardic acid, cardanol and cardol extracted from the cashew nutshell liquid). Benchaar *et al.* (2006a) indicates that in beef cattle the dry matter digestibility and nitrogen digestibility are not changed by the addition of essential oils in the diet. In dairy cows, Benchaar *et al.* (2006b) observed that the apparent digestibilities of dry matter, organic matter, neutral detergent fiber and starch were similar among animals fed the control diet and those supplemented with essential oils or sodium monensin. Likewise, Ando *et al.* (2003) observed no changes in total tract digestibility of dry matter and crude protein when steers were fed peppermint (200 grams steer/day) in which menthol is the main functional oil. Castillejos *et al.* (2005) observed no effect on nitrogen degradation when a mixture of essential oils (Crina Ruminants®) was added to continuous culture fermenters.

Animal temperament

The analysis of temperament available by kicking score and exit velocity did not show significance difference between diets in any of the 6 periods analyzed. The effect of the period on kicking score only affected ($P = 0.02$) the control treatment (Table 6), being

kicking score from the first period significantly higher than in the others periods of the experiment. The observed temperament may be a consequence of rational management used on the property. According to Cooke *et al.* (2009), temperament is a learned behavior and animals can adapt to human management, even if they are handled even before weaning as was done farm of origin.

There is no information yet referent to the temperament using essential oils in the current literature. The central nervous system (CNS) is responsible for the progress of the whole body and there are many barriers, particularly the hematoencephalic that protects it from chemical substances, that some mode chemicals, as essential oils, can pass through these obstacles, but its action is not guaranteed, it can still be a metabolism of these substances in the CNS (Banks *et al.* 2008). In all treatments proper temperament of animals was observed, and those with a score ≤ 3 as recommended by Cooke *et al.* (2012).

Ingestive behavior activities

The addition of essential oils in the diet did not produce significant variation on ingestive behavior. Water ingestion can be affected by dry matter and ingredients of diets, temperature and physiological state (NRC 2000). The ruminating time can be particularly affected by the amount, physical form and content of fiber (Van Soest 1994), However, ruminating time was very low (77 minutes/1440 minutes of observation time), since the diet presents a ratio of 90:10 concentrate and forage. This ratio with high grain affects the production of saliva and consequently influences ruminating.

The idle time can affect positively animal performance. The time used in other activities (walking, for example) lead to energy spending. Thus, the animal in idle process reduce the energy spending, grounded in this fact in this work the idle time observed is high, 962 minutes/ in 1440 minutes of observation.

Segabinazzi *et al.* (2011) fed cull cows with plant extracts (5 g/animal/day) of a natural additive composed of 750 mg of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*), 150 mg of garlic (*Allium sativum*), 250 mg of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*), 250 mg of canola oil (*Brassica napus*), 250 mg extract of quillaja (*Quillaja saponaria*) and with sodium monensin in comparison with control diet, and they did not obtain significant differences when observed idle time.

Carcass characteristics

The greater cold carcass weight observed in young bulls fed essential oils diets is consequence of the heaviest slaughter weight and the highest ADG from these diets, but dressing percentage was similar among five diets (54.6 %). Usually, young bulls (up to 24 month old) crossbreed (*Bos taurus x Bos indicus*) that are finished in a feedlot have a dressing percentage of 52 to 56% (Prado *et al.* 2008; Rotta *et al.* 2009; Dian *et al.* 2010; Maggioni *et al.* 2010). Corroborating our data, Yang *et al.* (2010a) used cinnamaldehyde levels (0, 400, 800 and 1600 mg/day/animal) in the diet of cattle finished in feedlot, and the authors did not obtain significant differences between groups on carcass dressing. Likewise, Valero *et al.* (2014a) did not find differences on carcass dressing from bulls fed ricinoleic acid and anacardic acid, cardanol and cardol extract for animals finished in feedlot.

The values obtained for losses by chilling are considered optimal (1.3%), this is the result of a proper chilling of carcasses in cold storage (Prado *et al.* 2008).

The observed fat thickness (4 mm) can be considered low. Fat thickness must be between 3 and 6 mm (Rotta *et al.* 2009) to protect the carcass during chilling, but carcasses with values greater than 6 mm can result in economic losses because of the high energetic value of depositing fat (fat that is removed during the slaughter process). However, some countries demand carcasses with greater fat thickness. Addition of essential oils did not modify fat thickness, which is agreed with results.

Muscle, fat and bone percentages after carcass dissection were similar among the five diets and featured average values of 60%, 25% and 15%, respectively. Generally, those percentages on bulls *Bos Taurus x Bos indicus* carcasses finished in a feedlot and fed high-energy density diets that are slaughtered between 460 and 520 kg ranges from 60% to 64% for muscle, 20% to 25% for fat and 14% to 18% for bone (Maggioni *et al.* 2009; Ito *et al.* 2010; Maggioni *et al.* 2010; Ito *et al.* 2012). Thus, the inclusion of essential oils in the diets had no effect on tissue percentages in the carcasses of young bulls finished in a feedlot, as also was observed by Valero *et al.* (2014a) with castor and cashew nut oils addition.

The average for the *Longissimus muscle area* of bulls was 82 cm², which is similar to what Maggioni *et al.* (2009) found in crossbred beef cattle (*Bos Taurus x. Bo sindicus*) finished in a feedlot with two sources of roughage and the addition of yeast.

Meat marbling was 4.3 points on average, which is considered a “light” marbling. The low marbling observed in the current experiment can be explained by the presence of Nellore genes. Beef from the *Bos indicus* sub-species generally have lower marbling scores compared to *Bos Taurus* (Rotta *et al.*, 2009).

The pH is considered adequate when found around 5.5 to 5.8, which is influenced by housing chilling and the stress that the animal suffers *ante mortem*. The pH obtained in this experiment (5.6) allows us to observe that the animals were calm and have a proper cooling of the carcass. Recently, Yang *et al.* (2010a) evaluated cinnamaldehyde levels (400, 800, 1600 mg/steer d) in the diet of steers raised in feedlot and they did not observe significant differences in carcass characteristics, comparing essential oil treatments with control or with monensin in diet, corroborating the data of this study. Chaves *et al.* (2011) provided cinnamaldehyde doses (100, 200, 300, 400 mg/Kg of DM) for growing lambs and also reported no differences in carcass characteristics analysis.

Conclusion

The results of this study suggest that clove and cinnamon essential oils can be added at levels from 3500 to 7000 mg per animal and day in high grain finished diets as an additive, because they improve animal performance at 11% in relation to the control diet, without changing digestibility of nutrients, temperament, animal ingestive behavior or carcass characteristics.

Acknowledgements

The current project was funded by the Araucaria Foundation, fund of the state of Paraná and the Brazilian Council for Research and Technological Development (CNPq). The authors would like to thank Ricardo Antonioli Grassano (Arapongas city, Paraná State, Brazil South) for providing the animals used in the research. Trade names or commercial products in this publication are mentioned solely for the purpose of providing specific information and do not imply recommendations or endorsement by the Department of Animal Science, State University of Maringá, Maringá, Paraná, Brazil.

References

- Ando, S, Nishida, T, Ishida, M, Hosoda, K, Bayaru, E (2003) Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. *Livestock Production Science* **82**, 245-248.
- AOAC (Ed. AOA Chemist (2005) ' - Association Official Analytical Chemist (2005).'
(AOAC: Gaithersburg, Maryland, USA)
- Arthington, J, Qiu, X, Cooke, R, Vendramini, J, Araujo, D, Chase, C, Coleman, S (2008) Effects of preshipping management on measures of stress and performance of beef steers during feedlot receiving. *Journal of Animal Science* **86**, 2016-2023.
- Bampidis, VA, Christodoulou, V, Florou-Paneri, P, Christaki, E, Spais, AB, Chatzopoulou, PS (2005) Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology* **121**, 285-295.
- Banks, WA, Burney, BO, Robinson, SM (2008) Effects of triglycerides, obesity, and starvation on ghrelin transport across the blood–brain barrier. *Peptides* **29**, 2061-2065.
- Beauchemin, KA, McGinn, SM (2006) Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. *Journal of Animal Science* **84**, 1489-1496.
- Benchaar, C, Calsamiglia, S, Chaves, AV, Fraser, GR, Colombatto, D, McAllister, TA, Beauchemin, KA (2008) A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology* **145**, 209-228.
- Benchaar, C, Duynisveld, JL, Charmley, E (2006a) Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science* **86**, 91-96.
- Benchaar, C, Petit, HV, Berthiaume, R, Whyte, TD, Chouinard, PY (2006b) Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science* **89**, 4352-4364.
- Bergen, WG, Bates, DB (1984) Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *Journal of Animal Science* **58**, 1465-1483.

- Biondo, PBF, Carbonera, F, Zawadzki, F, Chiavellia, LUR, Pilau, EJP, Prado, IN, Visentainera, JV (2016) Antioxidant capacity and identification of bioactive compounds by GC-MS of essential oils commercialized in Brazil. *Journal of Essential Oil Research* **in press**.
- Broughan, C (2002) Odours, emotions, and cognition – how odours may affect cognitive performance. *International Journal of Aromatherapy* **12**, 92-98.
- Busquet, M, Calsamiglia, S, Ferret, A, Kamel, C (2005) Screening for effects of plant extracts and active compounds of plants on dairy cattle rumen microbial fermentation in a continuous culture system. *Animal Feed Science and Technology* **123–124**, 597-613.
- Calsamiglia, S, Busquet, M, Cardozo, PW, Castillejos, L, Ferret, A (2007) Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science* **90**, 2580-2595.
- Cardozo, PW, Calsamiglia, S, Ferret, A, Kamel, C (2005) Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *Journal of Animal Science* **83**, 2572-2579.
- Castillejos, L, Calsamiglia, S, Ferret, A, Losa, R (2005) Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Animal Feed Science and Technology* **119**, 29-41.
- Chaves, AV, Dugan, MER, Stanford, K, Gibson, LL, Bystrom, JM, McAllister, TA, Van Herk, F, Benchaar, C (2011) A dose-response of cinnamaldehyde supplementation on intake, ruminal fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Science* **141**, 213-220.
- Chaves, AV, Stanford, K, Dugan, MER, Gibson, LL, McAllister, TA, Van Herk, F, Benchaar, C (2008) Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Science* **117**, 215-224.

- CIOMS/OMS (1985) Council for International Organizations of Medical Services. In 'International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals.' (WHO Distribution and sales service: Geneva, Switzerland)
- Cooke, RF, Arthington, JD, Araujo, DB, Lamb, GC (2009) Effects of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and pregnancy rates of Brahman-crossbred cows. *Journal of Animal Science* **87**, 4125-4132.
- Cooke, RF, Bohnert, DW, Cappellozza, BI, Mueller, CJ, Delcurto, T (2012) Effects of temperament and acclimation to handling on reproductive performance of beef females. *Journal of Animal Science* **90**, 3547-3555.
- Cruz, OTB, Valero, MV, Zawadzki, F, Rivaroli, DC, Prado, RM, Lima, BS, Prado, IN (2014) Effect of glycerine and essential oils (*Anacardium occidentale* and *Ricinus communis*) on animal performance, feed efficiency and carcass characteristics of crossbred bulls finished in a feedlot system. *Italian Journal of Animal Science* **13**, 790-797.
- Dian, PHM, Prado, IN, Valero, MV, Rotta, PP, Prado, RM, Silva, RR, Bertipaglia, LMA (2010) Levels of replacing corn by cassava starch on performance and carcass characteristics of bulls finished in feedlot. *Semina: Ciências Agrárias* **31**, 497-506.
- Distel, RA, Iglesias, RMR, Arroquy, J, Merino, J (2007) A note on increased intake in lambs through diversity in food flavor. *Applied Animal Behaviour Science* **105**, 232-237.
- Fandiño, I, Calsamiglia, S, Ferret, A, Blanch, M (2008) Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Animal Feed Science and Technology* **145**, 409-417.
- Geraci, JI, Garcarena, AD, Gagliostro, GA, Beauchemin, KA, Colombatto, D (2012) Plant extracts containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminal environment, short term intake pattern and animal performance. *Animal Feed Science and Technology* **176**, 123-130.
- Gordon, HM (1930) A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Parasitology* **22**, 116-136.

- Hart, KJ, Yáñez-Ruiz, DR, Duval, SM, McEwan, NR, Newbold, CJ (2008) Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* **147**, 8-35.
- Holden, LA (1999) Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *Journal of Dairy Science* **82**, 1791-1794.
- Hristov, AN, Ropp, JK, Zaman, S, Melgar, A (2008) Effects of essential oils on *in vitro* ruminal fermentation and ammonia release. *Animal Feed Science and Technology* **144**, 55-64.
- Ito, RH, Ducatti, T, Prado, JM, Prado, IM, Rotta, PP, Valero, MV, Prado, IN, Silva, RR (2010) Soybean oil and linseed grains on performance and carcass characteristics of crossbred bulls finished in feedlot. *Semina: Ciências Agrárias* **31**, 259-268.
- Ito, RH, Valero, MV, Prado, RM, Rivaroli, DC, Perotto, D, Prado, IN (2012) Meat quality from four genetic groups of bulls slaughtered at 14 months old. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* **34**, 425-432.
- Jayasena, DD, Jo, C (2013) Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology* **34**, 96-108.
- Kim, SJ, Min, SC, Shin, HJ, Lee, YJ, Cho, AR, Kim, SY, Han, J (2013) Evaluation of the antioxidant activities and nutritional properties of ten edible plant extracts and their application to fresh ground beef. *Meat Science* **93**, 715-722.
- Maggioni, D, Marques, JA, Perotto, D, Rotta, PP, Ducatti, T, Matsushita, M, Silva, RR, Prado, IN (2009) Bermuda grass hay or sorghum silage with or without yeast addition on performance and carcass characteristics of crossbred young bulls finished in feedlot. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **22**, 206-215.
- Maggioni, D, Marques, JA, Rotta, PP, Perotto, D, Ducatti, T, Visentainer, JV, Prado, IN (2010) Animal performance and meat quality of crossbred young bulls. *Livestock Science* **127**, 176-182.
- McIntosh, FM, Williams, P, Losa, R, Wallace, RJ, Beever, DA, Newbold, CJ (2003) Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Applied and Environmental Microbiology* **69**, 5011-5014.
- Meyer, NF, Erickson, GE, Klopfenstein, TJ, Greenquist, MA, Luebke, MK, Williams, P, Engstrom, MA (2009) Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing

- steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. *Journal of Animal Science* **87**, 2346-2354.
- Newbold, CJ, McIntosh, FM, Williams, P, Losa, R, Wallace, RJ (2004) Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* **114**, 105-112.
- NRC (2000) 'Nutrient Requirements of Beef Cattle.' (Natl. Acad. Press: Washington, DC, USA)
- OJEU (2003) Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. In 'Official Journal of European Union.' pp. L268/36. Brussels, Belgium)
- Ou, B, Hampsch-Woodill, M, Prior, RL (2001) Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 4619-4626.
- Prado, IN, Rotta, PP, Prado, RM, Visantainer, JV, Moletta, JL, Perotto, D (2008) Carcass characteristics and chemical composition of the *Longissimus* muscle of Purunã and 1/2 Purunã vs. 1/2 Canchin bulls. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **21**, 1296-1302.
- Robelin, J, Geay, Y (1975) Estimation de la composition de la carcasse des taurillons a partir de la 6ème côte. *Bulletin Technique. Centre de Recherches Zootechniques et Veterinaires de Theix* **22**, 41-44.
- Rotta, PP, Prado, RM, Prado, IN, Valero, MV, Visantainer, JV, Silva, RR (2009) The effects of genetic groups, nutrition, finishing systems and gender of Brazilian cattle on carcass characteristics and beef composition and appearance: a review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **22**, 1718-1734.
- Russell, JB, Houlihan, AJ (2003) Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS Microbiology Reviews* **27**, 65-74.
- Russell, JB, Strobel, HJ (1989) Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* **55**, 1-6.
- Segabinazzi, L. R., Viégas, J., Freitas, L. D. S., Brondani, I. L., Argenta, F. M., & Binotto, J. (2011). Behavior patterns of cows with Charolais or Nellore breed

predominance fed diets with plant extract or monensin sodium. *Revista Brasileira de zootecnia*, **40**, 2954-2962.

Silva, RR, Silva, FF, Prado, IN, Carvalho, GGP, Franco, IL, Almeida, ICC, Cardoso, CP, Ribeiro, MHS (2006) Comportamento ingestivo de bovinos. Aspectos metodológicos. *Archivos de Zootecnia* **55**, 293-296.

Tilley, J. M. A., & Terry, R. A. (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass and forage science*, **18**, 104-111.

Valero, MV, Prado, RM, Zawadzki, F, Eiras, CE, Madrona, GS, Prado, IN (2014a) Propolis and essential oils additives in the diets improved animal performance and feed efficiency of bulls finished in feedlot. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* **36**, 419-426.

Valero, MV, Torrecilhas, JA, Zawadzki, F, Bonafé, EG, Madrona, GS, Prado, RM, Passetti, RAC, Rivaroli, DC, Visentainer, JV, Prado, IN (2014b) Propolis or cashew and castor oils effects on composition of *Longissimus* muscle of crossbred bulls finished in feedlot. *Chilean Journal of Agricultural and Research* **74**, 445-451.

Van Soest, PJ (1994) 'Nutritional ecology of the ruminant.' (Cornell University Press: Ithaca, NY, USA)

Van Soest, PJ, Robertson, JB, Lewis, BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* **74**, 3583-3597.

Yang, WZ, Ametaj, BN, Benchaar, C, He, ML, Beauchemin, KA (2010a) Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: Intake, growth performance, carcass characteristics, and blood metabolites. *Journal of Animal Science* **88**, 1082-1092.

Yang, WZ, Benchaar, C, Ametaj, BN, Beauchemin, KA (2010b) Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal fermentation and intestinal digestion. *Animal Feed Science and Technology* **158**, 57-64.

Zawadzki, F, Prado, IN, Marques, JA, Zeoula, LM, Prado, RM, Fugita, CA, Valero, MV, Maggioni, D (2011a) Sodium monensin or propolis extract in the diet of Nellore bulls finished in feedlot: chemical composition and fatty acid profile of *Longissimus* muscle. *Semina: Ciências Agrárias* **32**, 1627-1636.

- Zawadzki, F, Prado, IN, Marques, JA, Zeoula, LM, Rotta, PP, Sestari, BB, Valero, MV, Rivaroli, DC (2011b) Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. *Journal of Animal and Feed Sciences* **20**, 16-25.
- Zhang, W, Xiao, S, Samaraweera, H, Lee, EJ, Ahn, DU (2010) Improving functional value of meat products. *Meat Science* **86**, 15-31.
- Zulueta, A, Esteve, MJ, Frígola, A (2009) ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry* **114**, 310-316.

Table 1. Ingredients diets composition (% DM)

Ingredient	CON ¹	CLO35 ²	CLO70 ³	CIN35 ⁴	CIN70 ⁵
Pellet sugar cane	10.3	10.3	10.3	10.3	10.3
Cracked corn	79.5	79.5	79.5	79.5	79.5
Soybean meal	5.28	5.28	5.28	5.28	5.28
Econbeef*	4.22	4.22	4.22	4.22	4.22
Limestone	0.42	0.43	0.42	0.43	0.42
Salt	0.42	0.43	0.42	0.43	0.42
Yeast	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Essential oils		0.035	0.070	0.035	0.070
Total	100	100	100	100	100

¹CON = control (without essential oil); ²CLO35 = 3500mg/d clove essential oil; ³CLO70 = 7000mg/d clove essential oil; ⁴CIN35 = 3500mg/d cinnamon essential oil; ⁵CIN70 = 7000 mg/d cinnamon essential oil.*Econbeef: Calcium (50 g/kg), magnesium (57 g/kg), sodium (81 g/kg), sulfur (3.75 g/kg), cobalt (20 mg/kg), copper (500 mg/kg), iodine (25 mg/kg), manganese (1.500 mg/kg), selenium (10 mg/kg), zinc (2.000 mg/kg), vitamin A (400.000 UI/kg), vitamin D3(50.000 UI/kg), vitamin E (750 UI/kg), ether extract (168 g/kg) and urea (200 g/kg).

Table 2. Chemical composition of diets (% DM)

Ingredient	DM ¹	CP ²	OM ³	Ash ⁴	EE ⁵	NDF ⁶	ADF ⁷	TDN
Pellet sugar cane	94.7	1.8	98.0	2.0	0.5	78.7	49.2	45.0
Cracked corn	88.9	10.0	99.1	0.9	3.5	17.7	4.4	90.0
Soybean meal	88.6	49.7	93.7	6.2	1.3	13.7	5.9	72.0
Econbeef	88.0	56.0	94.7	4.3	17.0	12.0	6.0	90.0
Limestone	98.0			98.0				
Salt	98.0			98.0				
Yeast	98.0	30.0	98.0	2.0				
Diets								
CON	89.9	13.3	97.5	2.49	3.99	29.3	12.5	82.5
CLO35	89.5	13.3	97.7	2.50	3.98	29.5	12.4	82.7
CLO70	89.9	13.3	97.4	2.56	3.98	29.2	12.3	82.3
CIN35	89.4	13.3	97.5	2.54	3.95	29.3	12.4	82.5
CIN70	89.2	13.3	97.8	2.55	3.96	29.5	12.3	82.3

¹Dry matter, ²Crude protein, ³Organic matter, ⁴Ashes, ⁵Ether Extract, ⁶Neutral detergent fiber, ⁷Acid detergent fiber, ⁸Total digestible nutrients.

Table 3. Animal performance and feed intake of young bulls finished in feedlot with essential oils in the diet.

	Experimental diets					SEM ⁶	P-Value
	CON ¹	CLO35 ²	CLO70 ³	CIN35 ⁴	CIN70 ⁵		
Initial body weight, (kg)	216	220	219	219	219	2.33	0.99
Final body weight, (kg)	455b	501a	506a	481ab	488ab	5.79	0.03
Average daily gain, (kg/d)	1.28b	1.50a	1.53a	1.40ab	1.44ab	0.03	0.02
Dry matter intake, (kg/d)	6.94b	7.88a	8.09a	7.77a	7.86a	1.27	0.03
Crude protein intake (kg/d)	0.92b	1.04a	1.07a	1.02a	1.04a	0.02	0.04
Neutral detergent fiber intake (kg/d)	2.02b	2.30a	2.37a	2.26a	2.29a	0.23	0.03
Acid detergent fiber intake (kg/d)	0.86b	0.98a	1.01a	0.97a	0.98a	0.10	0.03
Total digestible nutrients intake (kg/d)	5.64b	6.41a	6.61a	6.31a	6.40a	0.10	0.03
Feed efficiency (kg gain/ DM intake)	0.18	0.19	0.19	0.18	0.18	0.02	0.24

a–b Means within a row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

Treatments: ¹CON = control (no essential oil); ²CLO35 = 3500 mg/d clove essential oil; ³CLO70 = 7000 mg/d clove essential oil; ⁴CIN35 = 3500 mg/d cinnamon essential oil; ⁵CIN70 = 7000 mg/d cinnamon essential oil; ⁶ Standard error of means.

Table 4. *In vitro* digestibility of diets with essential oils fed to young bulls in feedlot

Digestibility, %	Experimental diets					SEM ⁶	P- Value
	CON ¹	CR35 ²	CR70 ³	CL35 ⁴	CL70 ⁵		
DM ⁷	74.4	76.9	75.3	77.3	76.3	0.43	0.19
CP ⁸	75.1	72.0	70.8	71.7	69.4	1.75	0.52
NDF ⁹	39.4	41.4	35.6	37.0	39.8	0.87	0.21

Treatments: ¹CON = control (without essential oil); ²CLO35 = 3500 mg/d clove essential oil; ³CLO70 = 7000 mg/d clove essential oil; ⁴CIN35 = 3500 mg/d cinnamon essential oil; ⁵CIN70 = 7000 mg/d cinnamon essential oil; ⁶ standard error of means, ⁷Dry matter, ⁸Crude protein, ⁹Neutral detergent fiber.

Table 5. Exit velocity of young bulls finished in feedlot with essential oils on the diet.

Periods	Experimental diets					<i>SEM</i> ⁶	<i>P- Value</i>
	CON ¹	CR35 ²	CR70 ³	CL35 ⁴	CL70 ⁵		
1	2.87	2.50	2.75	2.87	3.12	0.24	0.95
2	2.75	1.50	2.12	2.12	2.75	0.19	0.22
3	1.75	2.37	2.12	1.87	2.00	0.15	0.76
4	2.12	1.75	2.00	2.00	2.37	0.16	0.85
5	2.25	1.62	1.37	2.00	1.75	0.16	0.50
6	1.87	1.62	1.87	1.85	2.44	0.12	0.22
<i>SEM</i>	0.16	0.14	0.15	0.19	0.17		
<i>P - Value</i>	0.25	0.16	0.21	0.68	0.28		

Treatments: ¹CON = control (without essential oil); ²CLO35 = 3500 mg/d clove essential oil; ³CLO70 = 7000 mg/d clove essential oil; ⁴CIN35 = 3500 mg/d cinnamon essential oil; ⁵CIN70 = 7000 mg/d cinnamon essential oil; ⁶standard error of means

Table 6. Chute score of young bulls finished in feedlot with essential oils on the diet

Periods	Experimental diets					SEM ⁶	P- Value
	CON ¹	CLO35 ²	CLO70 ³	CIN35 ⁴	CIN70 ⁵		
1	2.00a	1.63	1.75	2.00a	1.88	0.15	0.52
2	1.13b	1.63	1.38	1.38b	1.50	0.10	0.18
3	1.00b	1.75	1.25	1.13b	1.63	0.12	0.12
4	1.25b	1.50	1.50	1.25b	1.13	0.11	0.36
5	1.13b	1.13	1.13	1.13b	1.38	0.07	0.36
6	1.13b	1.13	1.30	1.25b	1.13	0.07	0.64
SEM	0.09	0.12	0.09	0.09	0.11		
P - Value	0.02	0.53	0.64	0.72	0.29		

a-b Different superscripts within a column indicate that means differ ($P < 0.05$).

Treatments: ¹CON = control (without essential oil); ²CLO35 = 3500 mg/d clove essential oil; ³CLO70 = 7000 mg/d clove essential oil; ⁴CIN35 = 3500 mg/d cinnamon essential oil; ⁵CIN70 = 7000 mg/d cinnamon essential oil; ⁶ standard error of means.

Table 7. Effect of addition of essential oils in the diets on ingestive behaviour activities of young bulls finished in feedlot

Activities, min/day	Experimental diets					SEM ⁶	P-Value
	CON ¹	CLO35 ²	CLO70 ³	CIN35 ⁴	CIN70 ⁵		
Water ingestion	42.5	42.5	39.4	38.8	46.2	2.91	0.94
Feeding	389	333	389	378	359	10.7	0.42
Ruminating	63.7	78.8	83.8	67.5	88.7	6.22	0.70
Idle	954	995	937	965	955	11.4	0.60

Treatments: ¹CON = control (without essential oil); ²CLO35 = 3500 mg/d clove essential oil; ³CLO70 = 7000 mg/d clove essential oil; ⁴CIN35 = 3500 mg/d cinnamon essential oil; ⁵CIN70 = 7000 mg/d cinnamon essential oil; ⁶ standard error of means

Table 8. Carcass characteristics of young bulls finished in feedlot with essential oils in the diet

	Experimental diets					SEM ⁶	P-Value
	CON ¹	CLO35 ²	CLO70 ³	CIN35 ⁴	CIN70 ⁵		
Cold carcass weight, kg	246b	273a	282a	263ab	266ab	3.72	0.03
Cold dressing carcass, %	54.0	54.5	55.6	54.7	54.6	0.21	0.18
Chilling losses, %	1.20	1.24	1.25	1.50	1.39	0.07	0.69
Fat thickness, mm	3.66	3.77	4.01	4.21	3.90	0.95	0.40
Marbling ² , points	4.12	4.75	4.12	4.37	4.12	0.14	0.70
<i>Longissimus</i> muscle, cm ²	74.2	85.5	86.7	84.6	76.5	1.75	0.06
Muscle,%	61.5	60.7	61.7	60.2	62.5	0.65	0.83
Fat, %	16.4	17.3	16.0	15.9	13.8	0.55	0.38
Bone, %	16.3	16.5	16.8	17.6	18.1	0.48	0.74
Others, %	5.75	5.45	5.41	6.22	5.48	0.28	0.89
pH _{24h}	5.60	5.60	5.60	5.60	5.60	0.02	0.76

a–b Different superscripts within a row indicate that means differ ($P < 0.05$). Treatments: ¹CON = control (without essential oil); ²CLO35 = 3500 mg/d clove essential oil; ³CLO70 = 7000 mg/d clove essential oil; ⁴CIN35 = 3500 mg/d cinnamon essential oil; ⁵CIN70 = 7000 mg/d cinnamon essential oil; ⁶ standard error of means.

IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sistema de produção de bovinos de corte no Brasil é essencialmente em pastagens em função do baixo custo de produção. No entanto, em função da redução dos custos das *commodities* no Brasil, sobretudo o complexo milho e soja, abre-se uma oportunidade para engordar bovinos de corte de forma mais intensiva: suplementação a pasto, semi confinamento e confinamento. Contudo, a adição de altos níveis de grãos exige a inclusão de substâncias com capacidade de modular a fermentação ruminal. Estas substâncias, de modo geral, são antibióticos ou ionóforos, que são utilizadas nos últimos anos com muito sucesso. Todavia, mais recentemente as autoridades da União Europeia baniram o uso destas substâncias na alimentação animal. Da mesma forma, o Departamento de Drogas e Vigilância Pública dos Estados Unidos está monitorando o uso destas substâncias. Deste modo, o mundo científico é desafiado, mais uma vez, a oferecer compostos alternativos para substituir essas drogas. Assim sendo, vários produtos considerados não invasivos à saúde estão sendo estudados como, por exemplo, leveduras, extratos de própolis, extratos vegetais e, também, os óleos essenciais originários dos vegetais. Desta forma, nosso objetivo foi avaliar a adição de dois óleos essenciais (cravo e canela) sobre o desempenho animal, eficiência alimentar, características de carcaça e comportamento animal.

Estes dois compostos foram escolhidos em função dos resultados obtidos em ensaios anteriores sobre a caracterização de 20 óleos essenciais e poder antioxidante destes mesmos óleos. Nestes ensaios, os óleos de cravo e canela apresentaram os melhores resultados como antioxidantes. Por outro lado, os dados da literatura mostram que a

resposta animal com adição de antioxidantes na dieta de ruminantes é dose-dependente. As doses usadas foram baixas como, por exemplo, 100 mg/kg de matéria seca, ou extremamente elevadas como, por exemplo, 30.000 mg/kg de matéria seca. No entanto, as doses mais frequentemente e médias usadas situam-se por volta de 300 a 900 mg/kg de matéria seca da dieta.

No geral, a inclusão de óleos essenciais na dieta de bovinos de corte, durante 180 dias, terminados em confinamento, ocasionou um melhor desempenho animal (maior ganho em peso ao longo do período e maior ganho em peso diário). Da mesma forma, a adição dos óleos essenciais promoveu uma maior ingestão de alimentos. O maior ganho em peso pode ser explicado pela maior ingestão de alimentos e capacidade na modulação da microbiota ruminal que os óleos essenciais apresentam. Vale lembrar que os resultados obtidos com óleo de cravo foram melhores do que aqueles obtidos com óleo de canela. A maior ingestão de alimentos poderia ser explicada pela melhor palatabilidade das dietas com a adição destes compostos essenciais. Na realidade, o cheiro das dietas era característico da presença dos óleos essenciais. Em consequência do maior peso vivo de abate, o peso de carcaça foi maior para os animais suplementados com os óleos essenciais. No entanto, não foi observada diferença no rendimento de carcaça.

Por outro lado, a eficiência alimentar foi semelhante para os animais suplementados com óleos essenciais ou não. Em geral, a adição de antibióticos e ionóforos na dieta de ruminantes reduz a ingestão de alimentos e melhora a eficiência alimentar e proporciona ganho de peso semelhante. Neste estudo, observamos uma maior ingestão e maior ganho em peso, sem alterar a eficiência alimentar.

A digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro não foram alteradas pela adição dos óleos essenciais, embora a digestibilidade tenha sido elevada (76,4% para a matéria seca). De modo geral, a digestibilidade da matéria seca em bovino de corte em confinamento varia entre 60 a 70%. Esta elevada digestibilidade pode ser explicada pelo tipo de dieta (90% de concentrado e 10% de volumoso). Dieta de alto concentrado melhora a digestibilidade da dieta.

As variáveis que usualmente medem o comportamento animal (movimentação animal e tempo de ingestão, de ruminação e ócio) não foram alteradas pela adição dos óleos essenciais às dietas.

A adição dos óleos de cravo e canela na dieta de bovinos confinados não teve consequências sobre as características físicas e comerciais das carcaças como, por

exemplo, espessura de gordura de cobertura, perdas por resfriamento, área de olho de lombo, marmorização, pH e composição percentual dos tecidos (músculo, gordura e osso).

Em conclusão, a adição de óleo de cravo e óleo de canela determinou melhor desempenho de bovinos jovens (8 a 14 meses) terminados em confinamento e alimentados com ração de alto concentrado. Assim sendo, a suplementação da dieta com esses dois compostos dose-dependentes é viável do ponto de vista nutricional na dieta de bovinos em confinamento. No entanto, sua inclusão será determinada pelo custo destes compostos no futuro próximo.