



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**Parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhos de corte suplementados
com pimenta encapsulada em regime de pastejo**

IGOR MORENO SOUZA LOPES

SALVADOR –BA

2023



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**Parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhos de corte suplementados
com pimenta encapsulada em regime de pastejo**

IGOR MORENO SOUZA LOPES
Zootecnista

SALVADOR - BA

2023

IGOR MORENO SOUZA LOPES

Parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhos de corte suplementados com pimenta encapsulada em regime de pastejo

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Orientador: Prof. Dr. José Esler de Freitas Junior
Coorientador: Dr^a Ricardo Diniz Guerra e Silva

SALVADOR – BAHIA

2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA), com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA), com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Souza Lopes, Igor Moreno

Parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhos de corte suplementados com pimenta encapsulada em regime de pastejo / Igor Moreno Souza Lopes. -- Salvador, 2023.

53 f. : il

Orientador: José Esler de Freitas Júnior.

Coorientador: Ricardo Diniz Guerra e Silva.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós Graduação em Zootecnia) -- Universidade Federal da Bahia, Universidade Federal da Bahia, 2023.

1. Aditivo. 2. Capsaicina. 3. Pastoreio. 4. Suplementação. 5. Efeito Pungente. I. de Freitas Júnior, José Esler. II. Diniz Guerra e Silva, Ricardo. III. Título.

Parecer de Defesa do Trabalho de dissertação

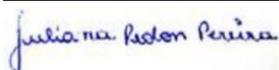
IGOR MORENO SOUZA LOPES

Parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhos de corte suplementados com pimenta encapsulada em regime de pastejo

Tese defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 1 de Dezembro de 2023.

Documento assinado digitalmente
gov.br JOSE ESLER DE FREITAS JUNIOR
Data: 05/02/2024 16:57:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. José Esler de Freitas Júnior
UFBA
Presidente



Dr^a. Juliana Reolon Pereira
ELANCO

Documento assinado digitalmente
gov.br DOUGLAS DOS SANTOS PINA
Data: 07/02/2024 16:08:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Douglas dos Santos Pina
UFBA

SALVADOR – BAHIA
DEZEMBRO – 2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo o que tem feito em minha vida e por ter me guiado pelo caminho correto até aqui, sem me deixar desviar de seus planos e me confortando nos momentos difíceis da trajetória. A meus pais por seu imenso apoio durante todo esse percurso e por todos os seus sacrifícios feitos para que eu pudesse prosseguir em direção ao meu objetivo .

Gostaria de agradecer também à toda equipe de bolsistas , orientadores e pessoas que me auxiliaram desde o início dessa caminhada e tornaram possível que tais resultados tenham sido alcançados . Aos funcionários da fazenda experimental de Entre Rios da UFBA por todo o suporte prestado à equipe ao longo desse trajeto e a todos os voluntários que disponibilizaram de seu tempo para somar de forma positiva à equipe de pesquisa.

Ao corpo de docentes do Programa de Pós graduação da Universidade Federal da Bahia por sua importante contribuição para que pudesse construir o conhecimento adquirido e por compartilhar suas experiências de foram de grande soma nesse caminho..

À Universidade Federal da Bahia por disponibilizar a Fazenda Experimental de Entre Rios, seus laboratórios e todas as estruturas e equipamentos que tornaram possível a realização desse projeto.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

A todos, meus sinceros agradecimentos!

BIOGRAFIA DO AUTOR

IGOR MORENO SOUZA LOPES, filho de Maristela Souza Lopes e Adalicio Macedo Lopes, nasceu em Salvador, estado da Bahia, no dia 17 de setembro de 1992. Em 2014, ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal da Bahia, tendo o concluído no ano de 2018. Em 2021 iniciou o Mestrado no Programa Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Bahia - UFBA, sob a orientação do professor Dr. José Esler de Freitas Júnior. Em novembro de 2023 submeteu-se à banca examinadora para defesa da tese e conclusão do Doutorado.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais.....	23
Tabela 2. Ingredientes e composição química do suplemento	24
Tabela 3. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) sobre o consumo e digestibilidade em novilhos	32
Tabela 4. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) na dieta sobre o pH ruminal, frequência cardíaca, temperatura retal e produção de AGV em novilhos.....	34
Tabela 5. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) na dieta sobre a síntese de proteína microbiana em novilhos	37
Tabela 6. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) na dieta sobre a contagem de células sanguíneas em novilhos.....	38
Tabela 7. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) sobre o balanço de energia em novilhos	39
Tabela 8. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) na dieta sobre a digestibilidade e fluxo reticular de nutrientes e taxa de digestão em novilhos	40
Tabela 9. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) na dieta sobre a cinética ruminal de nutrientes e taxa de digestibilidade em novilhos.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. pH ruminal de novilhos alimentados com diferentes doses de extrato de capsaicina	35
Figura 2. Médias de frequência cardíaca de novilhos alimentados com diferentes doses de extrato de capsaicina.....	35
Figura 3. Médias de temperatura retal de novilhos alimentados com diferentes doses de extrato de capsaicina.....	36

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	REVISÃO DE LITERATURA	14
	2.1 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	14
	2.2 FITOGÊNICOS COMO ADITIVOS.....	15
	2.3 CAPSAICININOIDES	18
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	20
	3.1 Considerações éticas e local de realização do experimento.....	20
	3.2 Animais, dietas e instalações	21
	3.3 Avaliação de forragem	24
	3.4 Análises bromatológicas	24
	3.5 Consumo e digestibilidade de nutrientes.....	25
	3.6 Fermentação ruminal	26
	3.7 Coleta de urina, utilização de nitrogênio e síntese de proteína microbiana	26
	3.8 Cinética ruminal e fluxo pós-ruminal.....	28
	3.9 Metabólitos sanguíneos e hemograma completo.....	29
	3.10 Balanço de energia	30
	3.11 Análises estatísticas.....	31
4.	RESULTADOS	31
	4.1 Consumo e digestibilidade de nutrientes e desempenho.....	31
	4.2 Fermentação ruminal e parâmetros de saúde	33
	4.3 Balanço de nitrogênio, síntese de proteínas microbianas e metabólitos sanguíneos... 	36
	4.4 Hemograma	37
	4.5 Balanço de energia	38
	4.6 Cinética ruminal.....	39
5.	DISCUSSÃO	41
	5.1 Consumo e Digestibilidade de nutrientes.....	41
	5.2 Hemograma	45
	5.3 Fermentação ruminal, frequência cardíaca e temperature retal	42
	5.4 Balanço de nitrogênio, síntese de proteínas microbianas e metabólitos sanguíneos... 	44
	5.5 Dinâmica ruminal.....	46
6.	CONCLUSÃO	46
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação com pimenta encapsulada (CAP) sobre o consumo de novilhos manejados a pasto e a digestibilidade dos nutrientes, fermentação ruminal, balanço de nitrogênio, síntese proteica microbiana, parâmetros de saúde e Cinética ruminal. Foram utilizados oito bovinos mestiços Holandês Zebu, pesando 313 ± 31 kg (Peso \pm DP)(4 animais com cânulas de silicone no rúmen de 4"), com suplementação de 0,5% do peso vivo (PV) em quatro períodos de 21 dias em Pastagem de capim Pangola (*Digitaria decumbens*) com os seguintes tratamentos: CON: Controle (suplementação de 0,5% do PC sem adição de CAPCIN®, NutriQuest, Campinas, Brasil); CAP150: (suplementação de 0,5% do PC e 150 mg/animal/dia de CAPCIN®); CAP300: (0,5 de suplementação de PC e 300 mg/animal/dia de CAPCIN®); CAP450: (0,5% de suplementação de PC e 450 mg/animal/dia de CAPCIN®). Os novilhos alimentados com pimenta encapsulada aumentaram linearmente a digestibilidade da FDN ($P = 0,007$) em comparação ao tratamento controle. Não houve efeito da pimenta encapsulada nos valores de frequência cardíaca e temperatura retal. Houve efeito quadrático para digestibilidade da matéria seca ($P = 0,042$), matéria orgânica ($P = 0,027$) e FDN ($P = 0,002$) e tendência de efeito quadrático para digestibilidade da proteína bruta ($P = 0,064$). Novilhos alimentados com pimenta encapsulada aumento linear do pH ruminal com as doses utilizadas ($P = 0,011$). Houve tendência de aumento linear nas concentrações de propionato mM para animais alimentados com pimenta encapsulada ($P = 0,086$) e efeito quadrático para concentrações de butirato mM e mmol/100 mmol ($P = 0,036$). A pimenta encapsulada tendeu a diminuir a excreção de nitrogênio nas fezes em comparação ao tratamento controle ($P = 0,081$). Os novilhos alimentados com pimenta encapsulada apresentaram aumento na contagem de linfócitos ($103/\mu\text{L}$)($P = 0,007$), eosinófilos ($103/\mu\text{L}$)($P = 0,002$) e eosinófilos (%) ($P = 0,047$) e apresentaram tendência de aumento linear na contagem de glóbulos brancos ($P = 0,062$) em comparação com novilhos alimentados com tratamento controle. Houve efeito quadrático ($P = 0,047$) para o volume ruminal. Novilhos alimentados com pimenta encapsulada apresentaram menor digestibilidade ruminal de FDN ($P=0,023$) e FDNdt ($P=0,032$) bem como uma tendência ($P=0,053$) a menor digestibilidade ruminal da MO. Houve um aumento da taxa de passagem ($P=0,0114$) para os animais que receberam os tratamentos com a inclusão da pimenta encapsulada em relação aos animais na dieta controle, apresentando um aumento linear ($P=0,0206$). Houve também aumento da taxa de turnover ($P=0,0499$) com uma tendência de aumento linear ($P=0,0893$) para os animais tiveram inclusão de níveis de pimenta encapsulada na dieta . O uso de pimenta encapsulada em suplementos de novilhos mestiços Holandês/Zebu manejados em pastagem de *Digitaria decumbens* até 450 mg/animal/dia melhora a digestibilidade dos nutrientes e é capaz de modular a fermentação ruminal. Além disso, os resultados reforçam a evidência de que o

fornecimento de pimenta encapsulada pode influenciar positivamente o estado de saúde do gado de corte manejado em condições tropicais.

Palavras-chave: aditivo, capsaicina, pastoreio, suplementação, efeito pungente

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of supplementation with encapsulated pepper (CAP) on the consumption of calves managed on pasture and nutrient digestibility, ruminal fermentation, nitrogen balance, microbial protein synthesis, health parameters and rumen kinetics. Eight crossbred Holstein Zebu cattle were used, weighing 313 ± 31 kg (Weight \pm SD)(4 animals with 4" silicone rumen cannulas), with supplementation of 0.5% of live weight (BW) in four periods of 21 days in Pangola grass (*Digitariadecumbens*) pasture with the following treatments: CON: Control (0.5% of BW supplementation without addition of CAPCIN®, NutriQuest, Campinas, Brazil); CAP150: (0.5% of BW supplementation PC and 150 mg/animal/day of CAPCIN®); CAP300: (0.5 PC supplementation and 300 mg/animal/day of CAPCIN®); CAP450: (0.5% PC supplementation and 450 mg/day animal/day of CAPCIN®). Calves fed with encapsulated pepper showed a linear increase in NDF digestibility ($P = 0.007$) compared to the control treatment. There was no effect of encapsulated pepper on heart rate and rectal temperature values. There was a quadratic effect for dry matter digestibility ($P = 0.042$), organic matter ($P = 0.027$) and NDF ($P = 0.002$) and a quadratic effect trend for crude protein digestibility ($P = 0.064$). Calves fed encapsulated pepper showed a linear increase in rumen pH with the doses used ($P = 0.011$). There was a tendency for a linear increase in concentrations of mM propionate for animals fed with encapsulated pepper ($P = 0.086$) and a quadratic effect for concentrations of mM and mmol/100 mmol butyrate ($P = 0.036$). Encapsulated pepper tended to decrease nitrogen excretion in feces compared to the control treatment ($P = 0.081$). Calves fed with encapsulated pepper showed an increase in lymphocyte counts ($103/\mu\text{L}$)($P = 0.007$), eosinophils ($103/\mu\text{L}$)($P = 0.002$) and eosinophils (%) ($P = 0.047$) and showed a linear increasing trend in white blood cell count ($P = 0.062$) compared to calves fed control treatment. There was a quadratic effect ($P = 0.047$) for rumen volume. Calves fed encapsulated pepper showed lower ruminal digestibility of NDF ($P=0.023$) and dTNDF ($P=0.032$) as well as a tendency ($P=0.053$) towards lower ruminal digestibility of OM. There was an increase in the passage rate ($P=0.0114$) for animals that received treatments with the inclusion of encapsulated pepper in relation to animals on the control diet, showing a linear increase ($P=0.0206$). There was also an increase in the turnover rate ($P=0.0499$) with a linear increasing trend ($P=0.0893$) for the animals that included levels of encapsulated pepper in the diet. The use of encapsulated pepper in supplements for Holstein/Zebu crossbred calves managed on *Digitariadecumbens* pasture up to 450 mg/animal/day improves nutrient digestibility and is capable of modulating ruminal fermentation. Furthermore, the results reinforce the evidence that the provision of encapsulated pepper can positively influence the health status of beef cattle managed in tropical conditions.

Keywords: additive, capsaicin, grazing, supplementation, pungent effect

1. INTRODUÇÃO

Otimizar o desempenho produtivo à partir da melhoria na eficiência de uso da energia contida na dieta ainda é um grande desafio na bovinocultura, seja na produção voltada para leite ou para corte, no Brasil e no mundo, principalmente por estarmos lidando com diferentes sistemas de produção que podem influenciar na forma como os animais aproveitam os nutrientes contidos nos alimentos fornecidos. Ao longo de anos de pesquisa foram desenvolvidas diferentes estratégias nutricionais que tem como objetivo aumentar a eficiência no uso de energia em sistemas de produção. Contudo, essas estratégias adotadas não garantem que o potencial produtivo desses animais, no que diz respeito à redução dos custos e otimização do uso de energia, seja alcançado uma vez que a diversidade de alimentos utilizados na alimentação animal pode comprometer tais alternativas (Oh et al., 2015).

Na última década o uso de aditivos antimicrobianos ionóforos representaram uma importante estratégia adotada na bovinocultura a fim de modular a fermentação ruminal buscando melhorar a eficiência do uso de energia dos alimentos. Entretanto, o uso desses aditivos ionóforos tem sido bastante questionado, principalmente quanto a resíduos desses antimicrobianos nos produtos de origem animal e que juntamente com o banimento por parte da união europeia do uso desses aditivos como promotores de crescimento na alimentação animal (Europeanunion, 2003) foi intensificada a condução de diversos estudos a fim de desenvolver alternativas viáveis, e de forma natural para aumentar a eficiência energética na alimentação. Dentre essas alternativas, os óleos essenciais (OE) e funcionais (OF) vêm recebendo bastante atenção por parte dos pesquisadores, por não apresentarem riscos à saúde do consumidor (Araujo et al., 2015). Os óleos essenciais apresentam funções anti-inflamatória, antimicrobiana e/ou antioxidante (Marsiglio, 2012). Apesar da utilização desses produtos na alimentação animal já ter sido proposta há mais de 50 anos, o sucesso da utilização dos ionóforos desestimulou os estudos da época (Silva, 2017).

Atualmente a busca por aditivos naturais foi intensificada e a pesquisa tem sido direcionada para os diversos compostos bioativos presentes nos extratos de plantas e óleos essenciais. Esses compostos, quando extraídos e concentrados, podem exercer atividades antimicrobianas contra uma ampla variedade de microrganismos, incluindo bactérias, fungos e vírus e aumentar a eficiência do uso da energia no sistema (Chao et al., 2000).

Entre os compostos secundários presentes nos óleos essenciais, a capsaicina, tem se destacado devido a suas propriedades químicas e mecanismos de ação. A capsaicina é um composto importante da pimenta, e apresenta importantes propriedades anti-inflamatórias e tem sido usada em diversas pesquisas, com efeitos de inibição da produção de mediadores pró-inflamatórios (Park et al., 2004; Surh et al., 2001; Caterina et al., 1997).

O principal interesse no uso da capsaicina como aditivo natural em dietas de bovinos de leite e corte é atribuído ao seu efeito pungente, em estimular o consumo de água, consumo de alimentos e o número de refeições ao longo de um dia (Calsamiglia et al., 2007; Rodríguez-Prado et al., 2012) podendo aumentar a eficiência energética em animais em regime de pasto ou confinadas. Alguns estudos comprovaram esse efeito com um aumento considerável do aumento do consumo de alimentos e a ingestão de água (Cardozo et al., 2005; Fandiño et al., 2008). Descobertas recentes sugeriram que a melhoria no desempenho animal pode ser devida a uma resposta do hospedeiro em vez de efeitos antimicrobianos ou sensoriais diretos (Oh et al., 2015). Para exemplo, oleoresina de *Capsicum* ou sua mistura com outros extratos de plantas reduzem o estresse oxidativo (Karadas et al., 2014), preveniram os sintomas da doença (Lee et al., 2011; Liu et al., 2012) e melhora do intestino saúde durante condições normais ou de doença (Liu et al., 2014) em aves de capoeira e suínos.

Este estudo hipotetiza que o uso da pimenta encapsulada como aditivo, fornecida nas dose de 150, 300 e 450mg/animal/dia para novilhos em sistema de pastejo, possa aumentar o consumo de alimento, melhorar a digestibilidade e a eficiência no uso de energia desses animais.

Dessa forma, este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do uso da pimenta encapsulada nos parâmetros digestivos e parâmetros fisiológicos de novilhos a pasto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Existe uma diversidade de compostos orgânicos que não apresentam função direta no crescimento e desenvolvimento das plantas recebendo então, o nome de metabólitos secundários (Taiz, 2009). Apesar de não influenciarem no crescimento e desenvolvimento, esses compostos atuam como protetores a micro-organismos, fatores

climáticos, falta de água e outros fatores. Esses compostos podem ser classificados de acordo com as características físicas, químicas ou atividade biológica (Neves Neto, 2010). Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides (Taiz, 2009).

Os compostos fenólicos são caracterizados pela presença de um anel aromático e um, ou mais, grupo hidroxila (Taiz, 2009). O grupo fenóis age como antioxidante, em virtude do bloqueio da oxidação de diversos ingredientes do alimento pelos seus radicais intermediários e sua habilidade de doar hidrogênio ou elétrons (Silva, 2014). Esses compostos são divididos em flavonoides e não-flavonoides. O tanino corresponde à principal substância dessa classe e sua função é proteger as plantas do ataque de insetos e contra os animais herbívoros. Na nutrição de ruminantes, os taninos são utilizados para proteger as proteínas através da formação de complexos e assim reduzir a degradação proteica no rúmen (Nozella, 2001).

Os alcaloides são compostos cíclicos, com pelo menos um átomo de nitrogênio em sua estrutura. Quando utilizados em doses baixas, os alcaloides têm alto valor terapêutico (García e Carril, 2009). Segundo Moreira (2014), os compostos alcaloídicos tem sido efetivo contra as bactérias gram-positivas, além de exibirem pouca ou nenhuma atividade contra as bactérias gram-negativas. Dessa forma, esses extratos quando incorporados à dieta de animais ruminantes tem o objetivo de promover maior eficiência no uso de energia e maior desempenho animal e melhor qualidade dos produtos finais.

Os terpenos, ou terpenoides, são formados pela fusão de unidades isoprenicas, que ao submetidos a altas temperaturas, podem se decompor em isopreno (Taiz, 2009). A classificação desses compostos é feita de acordo com o número de isoprenos que se ligam entre si. Os monoterpenoides são constituídos por duas unidades de isoprenos. Esse grupo de terpenoides corresponde ao principal constituinte dos óleos essenciais e essências voláteis, devido ao seu baixo peso molecular (Silva, 2017). Outro grupo de terpenoides que possui ação antimicrobiana é o dos triterpenos. As saponinas são as principais substâncias dessa classe (Taiz, 2009).

2.2 FITOGÊNICOS COMO ADITIVOS

Os extratos vegetais, utilizados como aditivos, tem propriedades multifuncionais e benéficas que são derivadas de componentes bioativos, que em sua maioria correspondem a esses metabólitos secundários (Paludo, 2013). A atividade antimicrobiana dos extratos de plantas é atribuída a esses compostos. A maioria dos compostos secundários apresentam atividade antimicrobiana (Neves Neto, 2015), entretanto, existem diferenças nas concentrações necessárias para inibir os micro-organismos.

Segundo Castro et al. (2002) e Botrel et al. (2010), fatores genéticos, ambientais e de manejo vão influenciar na composição química dos extratos vegetais. Flemming (2010), define os extratos vegetais como uma mistura de metabólitos que são obtidos da porção volátil das plantas por destilação a vapor. Provenza et al. (1996) relatam que a adição de extratos vegetais que proporcione diferentes sabores na alimentação animal, pode induzir um maior consumo. Broughan et al. (2002), relataram que devido a aromas e fragrâncias presentes em alguns extratos, principalmente os provenientes de óleos essenciais, a utilização desses compostos pode proporcionar uma sensação de bem-estar ao animal.

Coneglian (2009) relacionou o uso de extratos vegetais com uma melhora na digestibilidade da matéria seca uma vez que esses produtos podem aumentar a secreção salivar, agindo como tamponante, além de também aumentar a secreção do suco gástrico, pancreático, sais biliares e das enzimas do intestino delgado. O timol e o carvacrol correspondem aos compostos terpenoides mais ativos na maioria dos óleos essenciais.

Busquet et al. (2005), testando óleo de alho em diferentes concentrações (3, 30, 300 e 3000 mg) observaram redução do acetato e aumento de propionato e butirato nas concentrações de 30 e 300 mg. Além das doses a ser avaliadas, o uso de compostos bioativos muda de acordo com o sistema de produção, animais a pasto ou em confinamento. De acordo Calsamiglia et al. (2007), dietas ricas em concentrado, animais em sistema de confinamento, são passíveis de aumentar os efeitos dos óleos.

Cardozo et al. (2005), avaliaram os efeitos de óleos essenciais em diferentes pH, *in vitro*, em dieta de alto concentrado e concluíram que em pH alto, os efeitos dos óleos não são benéficos para bovinos de corte. A combinação de extratos vegetais e alto pH favoreceu redução da concentração total de ácidos graxos voláteis no rúmen e aumento na concentração de nitrogênio amoniacal, enquanto que em pH 5,5 a concentração de ácidos graxos voláteis foi mantida, além de haver redução na proporção

acetato:propionato e na produção de amônia. Esses resultados podem indicar que os efeitos dos óleos essenciais sobre a fermentação ruminal diferem de acordo com o pH ruminal, como citado por Araújo (2010).

Outro efeito proveniente dos óleos essenciais no ambiente ruminal está na diminuição da degradação proteica no rúmen. Segundo Calsamiglia et al. (2007), os óleos podem reduzir a taxa de deaminação. Chaves et al. (2008) constatou que na concentração de 100 mgL⁻¹, o óleo de alho e o composto anetol podem ser nutricionalmente prejudiciais aos ruminantes por promoverem o aumento da concentração de amônia (NH₃).

Sabe-se que a principal atuação dos óleos essenciais é sobre a parede celular das bactérias no trato digestivo. Dorman e Deans (2000), ao avaliarem a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de pimenta preta, cravo-da-índia, noz moscada, gerânio, orégano e tomilho, concluíram que todas as cepas bacterianas apresentaram algum grau de sensibilidade aos óleos testados, entretanto, o crescimento de algumas bactérias não foi inibido por óleos específicos. Nesse estudo, os autores observaram que os óleos de orégano, pimenta preta, cravo da índia e noz moscada foram igualmente eficazes contra os micro-organismos gram-positivos e gram-negativos, enquanto os óleos de gerânio e tomilho se mostraram mais seletivos sobre a inibição de bactérias gram-positivas.

Helander et al. (1998) ao caracterizarem a ação de alguns compostos de óleos essenciais, esclareceram a toxicidade diferencial dos componentes dos óleos essenciais em bactérias gram-negativas. Além do sistema de produção, e a dose usada, o tempo de ação dos compostos no trato digestório mudam a resposta. A ação dos óleos essenciais sobre as bactérias gram-negativas e gram-positivas, além de ser explicada pela atuação dos diferentes princípios ativos presentes nos óleos, ainda conforme relatado pelos autores, pode ser explicada pelo tempo de exposição das bactérias aos compostos.

Quattara et al. (1997), observaram que nas primeiras 24 horas, os efeitos inibitórios dos óleos essenciais nas bactérias gram-positivas e gram-negativas foram os mesmos. No entanto, a partir de 48 horas, as gram-negativas foram menos afetadas que as outras. Além desses resultados, os autores observaram que dos oito óleos testados, os de cravo, canela e alecrim foram eficientes em diluições de 1/100 por 48 horas e os demais (tomilho, alho, orégano, pimenta-preta e cominho) foram eficazes apenas por 24 horas e em diluições de 1/10.

As bactérias gram-positivas aparentam ser mais sensíveis devido a sua estrutura de parede celular. No entanto, Kim et al. (1995) relataram a resistência da *L. monocytogenes*, bactéria gram-positiva, sobre o efeito de 11 óleos essenciais, enquanto as gram-negativas avaliadas se mostraram susceptíveis aos mesmos. Ouattara et al. (1997) justificam essas variações com as diferenças entre as cepas da mesma espécie bacteriana.

2.3 CAPSAICININÓIDES

Entre os compostos secundários presentes nos óleos essenciais, a capsaicina, tem se destacado devido a suas propriedades químicas e ao seu mecanismo de ação. É um alcaloide fenólico (8-metil-N-vanilil-6 nonenamida) de caráter lipofílico presente nas pimentas do gênero *Capsaicum*ssp..

A capsaicina é um composto pungente importante da pimenta, e apresenta importantes propriedades anti-inflamatórias e tem sido usada em diversas pesquisas, com efeitos de inibição da produção de mediadores pró-inflamatórios (Park et al., 2004; Surh et al., 2001; Caterina et al., 1997). O principal interesse no uso da capsaicina como aditivo natural em dietas de bovinos de leite e corte é atribuído ao seu efeito pungente, em estimular o consumo de água, consumo de alimentos e o número de refeições ao longo de um dia (Calsamiglia et al., 2007; Rodríguez-Prado et al., 2012), podendo aumentar a eficiência energética da dieta em animais em regime de pasto ou em confinamento.

Oh et al. (2015) avaliaram a inclusão de 20% de oleorresina de *Capsicum*; 1,2% de capsaicinóides; Pancosma S. por meio do produto CapsXL, em três doses 250, 500 e 1000 mg por vaca por dia. Os resultados sugeriram aumento de 1,4 litros de leite/vaca/dia, com a dose de 250 mg e os autores consideram um efeito sutil ou nulo sobre os processos digestivos. Os autores observaram aumento da atividade neutrofílica e células imunes relacionadas à resposta de fase aguda. Alguns estudos comprovaram o efeito com um aumento considerável do aumento do consumo de alimentos e a ingestão de água (Cardozo et al., 2005; Fandiño et al., 2008).

Rodríguez-Prado et al. (2012) avaliaram a inclusão de 125, 250 e 500 mg / dia/ animal de oleorresina de *Capsicum* padronizada com 6% de capsaicina e dihidrocapsaicina (XTract 6933). Os resultados do estudo confirmam que os principais

efeito da capsaicina em bovinos de corte com a propriedade pungente de Capsicum elevando o consumo de água seguido de aumento da ingestão de alimentos. Além disso, os autores concluíram que a capsaicina está relacionada com o aumento no consumo de massa seca e às mudanças no padrão de ingestão. A falta de efeito negativo de doses de até 500 mg / d indica que há um tamanho considerável de margem de segurança para o uso do produto, haja vista que outros óleos essenciais demonstraram modificar o perfil de fermentação ruminal para maior propionato e menor acetato e nitrogênio amoniacal (Calsamiglia et al., 2007).

Cardozo et al. (2005) avaliaram a inclusão de extrato de Capsicum (CAP; contendo 15% de capsaicina) e uma mistura de cinamaldeído puro (0,6 g / d) e eugenol (0,3 g / d; CIE2) e concluíram que a redução de acetato e amônia no rúmen e o aumento das concentrações de propionato e aumento da energia para o animal é mais eficiente para produção de carne bovina, óleo de Capsicum, óleo de anis ou mistura de cinamaldeído e eugenol pode ser útil como aditivos, mas são necessários dados sobre o desempenho animal para confirmar seus benefícios.

Fandiño et al. (2008) avaliaram a inclusão de 500 mg óleo de Capsicum por dia em novilhas de corte na forma em comparação com uma dieta controle e uma dieta contendo monensina 238mg/dia. Os autores concluíram que o Capsicum aumentou a ingestão de matéria seca, embora também reduzido o acetato e aumentasse o butirato no rúmen, proporções da ácidos graxos totais e recomendaram que o Capsicum pode ser usado como modificador em digestão para aumentar a produção em bovinos de corte embora seja necessário maior numero de estudos para avaliação de desempenho.

É preciso destacar que o uso da oleorresina de Capsicum ou sua mistura com outros extratos de plantas reduzem o estresse oxidativo (Karadas et al., 2014; Lee et al., 2003), preveniram os sintomas da doença (Liu et al., 2012; Liu et al., 2013a; Liu et al., 2013b) e melhora do intestino saúde durante condições normais ou de enfermidade (Liu et al., 2014) em aves de capoeira e suínos. Além disso, estudos usando ratos mostraram que os capsaicinóides, compostos ativos em Capsicum, apresentaram efeitos moduladores nas células imunológicas neutrófilos e células T (Lee et al., 2011; Lee et al., 2013; Franco-Penteado et al., 2006; Takano et al., 2007) e diminuição da oxidação marcadores de estresse e balanço energético negativo induzido (Yoshioka et al., 2000; Abdel-Salam et al., 2012).

Oh et al. (2013) também relataram que uma infusão abomasal de curto prazo (9-dias) de oleorresina de Capsicum aumentou a proporção de linfócitos e CD4 + Células

T e não afetou marcadores de estresse oxidativo em sangue de vacas leiteiras. Posteriormente Oh et al. (2016) o efeito da inclusão de três níveis de oleorresina de *Capsicum* em vacas em lactação, 0 mg / dia (controle), 100 mg/dia, e 200 mg/dia (Nexulina X50-7035; 15,5% de oleorresina de *Capsicum*; 0,93%). Os autores concluíram que a suplementação dietética de oleorresina de *Capsicum* tendeu a aumentar produção de leite e aumento da eficiência alimentar. Além disso, a oleorresina de *Capsicum* diminuiu a concentração sérica de insulina, mas a concentração de glicose não mudou durante o teste de tolerância à glicose. Os autores sugerem que, diminuindo a insulina a oleorresina de *Capsicum* fornecida nas doses de 100 a 200 mg / dia pode ter glicose redirecionada para produção de leite em lactação vacas.

Um estudo realizado por Vittorazzi Júnior (2022) com vacas em lactação utilizando dois diferentes níveis de inclusão de pimenta encapsulada, 750 e 1500 mg/vaca/dia, demonstrou um aumento do consumo de matéria seca em relação ao peso corporal, em comparação com a dieta controle, onde vacas que receberam dieta com o nível de inclusão de 1500 mg de Capsaicina mostraram tendência a aumentar o consumo em relação as vacas que receberam 750 mg. Ainda nesse estudo foi observado um aumento na produção de leite corrigido para gordura 3,5% com a inclusão da Capsaicina, bem como aumento da produção de gordura, proteína e lactose.

Abulaiti et al. (2021) observaram maiores níveis de glicose sérica em vacas suplementadas com 40 e 60 mg de Capsaicina por Kg de peso corporal durante e 50 dias após inseminação artificial em relação ao grupo controle. Maiores níveis de lipoproteína esterase também foram apresentados para todos os grupos de inclusão de Capsaicina em relação ao grupo controle.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Considerações éticas e local de realização do experimento

Todos os procedimentos realizados no presente experimento foram enviados para aprovação no Comitê de Ética para Uso de Animais pela Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador (BA) Brasil (número de aprovação: 20/2022).

O experimento foi realizado entre abril e julho de 2022 na Fazenda Experimental de Entre Rios, que é uma instalação da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (UFBA) localizada no município de Entre Rios, região nordeste da Bahia, Brasil (11°56'31"S, 38°05'04"O e 162 m de altitude). A região tem temperatura média mínima de 22°C, uma média temperatura máxima de 29°C, precipitação média anual de 1,000–1,251 mm e clima quente e semi-úmido.

3.2 Animais, dietas e instalações

Foram utilizados 8 bovinos mestiços Holandês Zebu, com 300 ± 20 kg (Peso \pm DP)(4 animais com cânulas de silicone no rúmen de 4"), com suplementação de 0,5% do peso vivo (PV) e mantidos em pasto de capim Pangola (*Digitaria decumbens*) de 1,2 hectares. Os animais foram distribuídos em quadrado latino 4×4 replicado, com períodos de 21 dias, em que os últimos sete dias foram destinados para a coleta de dados. Dessa forma, os tratamentos: CO: Controle (suplementação de 0,5 % do PV sem adição de CAPCIN®NutriQuest, Campinas, Brazil); CAP150: (suplementação 0,5% do PV e 150 mg/animal/dia de CAPCIN®); CAP300: (suplementação 0,5% do PV e 300 mg/animal/dia de CAPCIN®); CAP450: (suplementação 0,5%do PV e 450 mg/animal/dia de CAPCIN®), foram distribuídos aleatoriamente entre as unidades experimentais.

O aditivo alimentar é um pó acastanhado com odor forte contendo no mínimo 10 g/kg (mínimo) de pimenta encapsulada, 5 g/kg de capsaicinoides, além de óleo de palma e dextrose. Segundo informações do fabricante, o óleo de palma e a dextrose são intencionalmente misturados à capsaicina para minimizar seu sabor picante e possíveis efeitos negativos na ingestão de MS. A dextrose e a pimenta são homogeneizadas e revestidas com óleo de palma aquecido através do método de granulação em leito fluidizado para formar a pimenta encapsulada. O CAP foi pesado em balança e fornecido Topdressing, entregue como cobertura no suplemento.

Tabela 1. Composição química obtida para os ingredientes utilizados nas dietas experimentais

Item	Farelo de soja	Milho moído	Ureia
Matéria Seca	91,17	90,09	100,00
Matéria Orgânica	85,2	88,62	-
Matéria Mineral	5,97	1,47	-
Proteína Bruta	43,45	7,1	281,00
NIDN ¹	5,31	9,02	-
NIDA ²	2,46	2,69	-
Extrato Etéreo	0,8	5,45	-
Carboidratos Totais	49,78	85,98	-
FDN ³	11,63	12,45	-
FDNcp ⁴	9,07	9,71	-
CNF ⁵	49,78	85,98	-
FDA ⁶	8,71	3,89	-
FDNi	2,09	3,10	-
Lignina	1,56	1,21	-
NDT ⁷	79,26	90,94	-
EL ⁸ (Mcal/kg)	2,5	2,2	-

¹ nitrogênio insolúvel em detergente neutro (% do NT); ² nitrogênio insolúvel em detergente ácido (% do NT); ³ fibra em detergente neutro; ⁴ fibra em detergente neutro livre de cinzas e proteína; ⁵ carboidratos não fibrosos; ⁶ fibra em detergente ácido; ⁷ nutrientes digestíveis totais; ⁸ energia líquida calculada de acordo com o NRC (2001).

Tabela 2. Ingredientes e composição química do suplemento

Item (% of DM)	Supplement	Grass Pangola (<i>Digitariadecumbens</i>)
Milhomoido	653	-
Farelo de soja	230	-
Ureia	32	-
Mineral ¹	50	-
Sal	35	-
Composição química (% MS) ²		
MS	90,1	33,5±3,77
MO	87,9	92,35±0,20
Cinzas	12,2	7,65±0,20
PB	26,2	9,80±1,90
EE	40	4,71±0,70
FDN	15,3	68,73±2,85
CNF ³	48,9	18,43±2,52
FDNi	0,04	27,98±3,95
Nutrientes digestíveis totais ⁵	75,3	61,05±0,90
Energia líquida (Mcal/kg of DM) ⁶	18,5	1,28±0,03
<i>Massa de forragem, kg/ha</i>		
Massa de forragem total		4632±645
Folhas verdes		1262±185
Bainha+Colmo		1220±350
Material morto		3080±423
Taxa de lotação, (AU/ha) ⁷		4,96±0,39

¹Contido por quilograma de produto: 225 g calcio, 160 g fósforo, 30 g enxofre, 18 g magnésio, 120 mg cobalto, 2500 mg cobre, 120 mg iodo, 1800 mg manganês, 36 mg selênio, 5250 mg zinco, 1600 mg fluor. ²MS = matéria seca; MO= matéria orgânica, PB = proteína bruta,

aFDNom = fibra em detergente neutro dosada com uma amylase termoestável e livre de cinzas, EE = extrato etéreo, FDNi = fibra em detergente neutro indigestível, CNF = carboidratos não fibrosos.²De acordo com equação de Hall (2000). ³De acordo com equação do NASEM (2016). ⁴De acordo com equação de NASEM (2016). ⁵unidade animal (padronizado para peso corporal relativo de 450 kg).

Os escores de condição corporal foram determinados nos mesmos tempos que o peso corporal usando um sistema de 5 pontos (1 = emaciado; 5 = obeso) de acordo com Wildman et al. (1982).

3.3 Avaliação de forragem

Durante todo o experimento, foram retiradas amostras de forragem a cada 21 dias de cada piquete. Durante a estação chuvosa, a altura média do dossel foi medida a cada 3 dias em 180 pontos aleatórios por hectare dentro de cada piquete para manter uma altura média do dossel de 30 cm. A massa de forragem (MF) foi estimada cortando e coletando três amostras de forragem de cada piquete, na altura média do dossel (como anteriormente medido). A forragem foi cortada rente ao solo em uma área limitada por uma moldura circular de 0,25 m², conforme descrito por Barbero et al. (2015).

As amostras foram inicialmente pesadas, depois divididas em duas, uma para estimar a matéria seca total disponível de forragem (MST, kg MS ha⁻¹) do piquete e o outro para determinar a composição morfológica da forragem. Para avaliação da composição morfológica, as amostras foram separadas manualmente em material senescente (folha e caule), caules verdes (folha, bainha e caule) e lâminas de folhas verdes. As amostras foram secas em estufa (Tecnal TE-394, Brasil) com circulação de ar 55°C por 72 h antes da pesagem final. A composição química da forragem foi determinada usando forragem amostrada pelo método de simulação de pastejo (coleta manual) a partir de 20 pontos por hectare (Barbero et al., 2015).

Após a secagem, forragem e amostras de suplemento foram moídas em moinho Willey, com peneira de malha de 1-mm. Uma parte da amostra foi previamente separada e usada para análise de fibra de detergente neutro indigestível (FDNi), moído a 2-mm (Casali et al., 2008).

3.4 Análises bromatológicas

As amostras de alimentos, sobras e fezes foram analisadas quanto ao seu teor de matéria seca (MS) (método 930.15; AOAC, 2000), cinzas (método 942.05), proteína bruta ($N \times 6.25$; método 984.13), extrato etéreo (método 920.39), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (método 973.18), segundo os métodos descritos pela AOAC (2000) e fibra em detergente neutro, usando alfa-amilase e sem a adição de sulfito de sódio (Van Soest et al., 1991).

As amostras moídas a 2-mm de ingredientes, sobras e fezes foram colocadas em sacos de tecido não-tecido (TNT)(4×5 cm, 20 mg MS/cm²) e os sacos foram incubados no rúmen de dois novilhoscanulados adaptados a mesma dieta do período pós-parto do experimento. Depois de 288 horas, os sacos foram removidos do rúmen e lavados em água-corrente, secos a 55°C em estufa de ventilação forçada por 72 horas e submetidos ao tratamento com detergente ácido, como descrito previamente para posteriores determinações dos teores de FDN e de FDNi das amostras.

3.5 Consumo e digestibilidade de nutrientes

O dióxido de Titânio (TiO₂) foi usado como marcador externo para estimar a excreção fecal, e o FDNi foi usado como marcador para estimar o consumo de MS de forragem. Todos os dias, 10 g de dióxido de Titânio (TiO₂) foram fornecidos para cada animal por meio de top dressing por 10 dias consecutivos, entre o 5º e 15º dia de cada período experimental de 21 dias, às 10:30h. Nesse período de 10 dias de teste de titânio, os primeiros 7 dias foram destinados para a adaptação dos animais, e no 8º, 9º e 10º dias. Dessa forma, as coletas de fezes foram realizadas a cada 9 horas, do dia 12 a 14 de cada período experimental, tendo início às 10h do dia 12 de cada período experimental.

Amostras fecais foram coletadas após a defecação ou diretamente do reto e processado como descrito anteriormente para as amostras de pasto. O concentrado foi fornecido diretamente no cocho todos os dias as 10:00h, individualmente para cada animal. O conteúdo de FDNi e FDN nas amostras fecais foram estimados usando a mesma metodologia conforme descrito na seção anterior.

A excreção da matéria seca fecal foi estimada utilizando-se o indicador externo, dióxido de titânio, sendo calculada com base na razão entre a quantidade do indicador fornecido e sua concentração nas fezes (Oliveira et al., 2012). A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foi utilizada como indicador interno para estimar o consumo

de matéria seca do pasto, adotando-se a metodologia descrita por Detmann et al. (2001). Assim, estabeleceu-se a relação entre a ingestão diária do indicador interno (FDNi) no concentrado mais forragem e sua concentração nas fezes: $CMS = [(EF \times CIF) - IC] / CIFO + CMSC$; em que: EF = excreção fecal (kg/dia); CIF = concentração do indicador interno nas fezes (kg/kg); IC = indicador interno presente no concentrado (kg/dia); CIFO = concentração do indicador interno na forragem (kg / kg) e CMSC = consumo de matéria seca de concentrado (kg/dia).

3.6 Fermentação ruminal

Para avaliar os valores de pH, concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e ácidos graxos voláteis (AGV's), as amostras de fluido ruminal foram coletadas através da cânula ruminal em cinco locais diferentes (regiões ruminal crânio-dorsal, crânio-ventral, ventral, caudo-ventral e caudo-dorsal) nos dias 16, 17 e 18 de cada período experimental, nos tempo 0 (antes da suplementação), 3, 6, 9, 12 e 18 h após a suplementação. No dia 16, as amostras foram coletadas às 10:00, 14:00 e 18:00 h. No dia 17, as amostras foram coletadas às 12:00 e 16:00 h, e no dia 18, as amostras foram colhidas às 20:00 h. O padrão de coleta foi realizado para reduzir o tempo que os animais ficariam fora das pastagens, minimizando assim o impacto na pastagem de ciclo comportamento. O tempo 0 (zero) h corresponde à amostragem antes suplementação, marcada para as 10:00h.

O fluido ruminal foi coletado na interface sólido-líquido do ambiente ruminal. Dessa forma, o líquido ruminal coletado foi imediatamente avaliado quanto ao pH e armazenados em freezer a -20°C para posteriores análises de N-NH₃ e ácidos graxos voláteis AGVs. A determinação da concentração de N-NH₃, foi realizada por colorimetria segundo método proposto por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977).

A avaliação de AGV's foi realizada por cromatógrafo líquido de alto desempenho (HPLC), marca SHIMADZU, modelo SPD-10A VP acoplado ao detector Ultra Violeta (UV), utilizando-se comprimento de ondas 210 nm. A determinação de metano entérico foi realizada levando em consideração a concentração de AGV's a partir da equação proposta por Moss et al. (2000).

3.7 Coleta de urina, utilização de nitrogênio e síntese de proteína microbiana

Amostras de urina (50 mL) foram coletadas nos mesmos dias da coleta de fezes e de retículo (do dia 12 a 14 de cada período experimental), a cada 9 horas, após micção espontânea dos animais. Após a realização das coletas de urina, as amostras foram filtradas e alíquotas (10 mL) foram diluídas em uma solução de ácido sulfúrico (40 mL, 0,036 N)(Valadares et al., 1999) para evitar a destruição de derivados de purina e precipitação de ácido úrico. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em frascos plásticos identificados e acondicionados a -20°C para posteriores análises de nitrogênio, creatinina e derivados de purina.

O balanço de compostos nitrogenados (BN) foi obtido pela diferença entre o total de nitrogênio ingerido (N-total) e o total de nitrogênio excretado nas fezes (N-fezes), e na urina (N-urina). A determinação do nitrogênio total nas fezes e na urina foi feita segundo a AOAC, 2000 ($N \times 6.25$; método 984.13).

O volume urinário diário foi estimado com base nas concentrações de creatinina na urina. As concentrações de creatinina e ácido úrico foram determinadas usando kits comerciais por reação enzimática colorimétrica cinética em espectrofotômetro. A excreção urinária de creatinina foi estimada a partir da proposição de 32,27 mg/kg de peso corporal (Chizzotti et al., 2004). Os pesos corporais foram mensurados usando uma balança eletrônica para animais de grande porte.

A síntese de proteína microbiana foi determinada de acordo com Chen e Gomes (1992). As concentrações de ácido úrico na urina foram determinadas por meio de kits comerciais e posterior leitura das absorbâncias em espectrofotômetro. Além disso, as concentrações de alantoína na urina foram determinadas conforme metodologias descritas por Fujihara et al. (1987) e Chen e Gomes (1992).

A excreção total de derivados de purina (DP, mmol/d) foi calculada como a soma de quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina (Orellana Boero et al., 2001). Os derivados de purina absorvidos (DPabs, mmol/d) foram calculados da seguinte forma: $DPabs = (DP - 0,236 \times PC^{0,75}) / 0,84$, em que PC = peso corporal, 0,84 representa a recuperação de DPabs como DP, e $0,236 \times PC^{0,75}$ a excreção endógena de DP (Chen e Gomes, 1992).

A síntese ruminal de nitrogênio (Nmic gramas N/d) foi calculada com base em derivados de purina absorvidos, usando a equação de Chen e Gomes (1992): $Nmic = (70 \times DPabs) / (0,83 \times 0,134 \times 1.000)$, considerando 70 como o teor de derivados de N purina (mg N/mol), 0,134 a razão N derivados de purina / N microbiano (Valadares et al., 1999), e 0,83 a digestibilidade intestinal de purinas microbianas.

3.8 Cinética ruminal e fluxo pós-ruminal

Para a determinação da cinética ruminal, todo o conteúdo ruminal foi removido manualmente através de uma cânula ruminal 2,0 h antes da alimentação (12:00 h) no dia 20 e 4,0 h após a alimentação (14:00 h) no dia 21 de cada período experimental. O conteúdo total do rúmen foi quantificado em peso e volume e devolvido ao rúmen. Durante a retirada do conteúdo ruminal, alíquotas de 10% da digesta foram separadas para permitir amostragem acurada da composição ruminal. As alíquotas foram filtradas com auxílio de malha (1,0 mm de porosidade) com o objetivo de separar o conteúdo sólido do líquido, para determinação do tamanho médio de partícula. Ambas as frações (sólida e líquida) foram pré-secas (55°C por 72h) e corrigidas para matéria seca original, sendo realizadas posteriores análises de MS, MO, MM, FDN e FDNi, conforme metodologias da AOAC (2000) anteriormente mencionadas.

As taxas de renovação ruminal, passagem ruminal, e digestão ruminal de cada nutriente foram calculadas de acordo com as equações propostas por Oba e Allen (2003):

$$\text{Taxa de renovação ruminal (\%/h)} = \frac{(\text{Consumo do nutriente/h} / \text{tamanho do compartimento (massa ruminal do nutriente)}) / 24 \times 100}{}$$

$$\text{Taxa de passagem ruminal (\% / h)} = \frac{(\text{Fluxo do nutriente no rúmen/ pool do nutriente no rúmen}) / 24 \times 100}{}$$

$$\text{Taxa de digestão ruminal (\% / h)} = \text{taxa de turnover no rúmen (\% / h)} - \text{taxa de passagem do rúmen (\% / h)}$$

As digestibilidades aparentes da MS e MO no rúmen foram calculadas pela seguinte equação:

$$\text{Digestibilidade ruminal (\%)} = \frac{\text{consumo} \left(\frac{\text{kg}}{\text{dia}} \right) - \text{fluxo omasal} \left(\frac{\text{kg}}{\text{dia}} \right)}{\text{consumo} \left(\frac{\text{kg}}{\text{dia}} \right)}$$

A fibra em detergente neutro potencialmente digerível (FDN_{pd}) foi calculada pela diferença entre os teores de FDN e FDN_i. O tamanho do pool ruminal de nutrientes foi determinado multiplicando a concentração de cada componente pelo peso da MS digesta ruminal (Harvatine e Allen, 2006). A taxa de turnover ruminal foi calculada de acordo com Oba e Allen (2003). O fluxo pós-ruminal da digesta foi estimado pelo método do duplo marcador, segundo France e Siddons (1986). Assim, o FDN_i está associado a grandes frações de partículas (Rotta et al., 2014). Portanto, o marcador de fase sólida e CoEDTA estão associados à porção fluida, ou seja, marcador de fase líquida (Udén et al., 1980).

O FDN_i foi determinado na digesta usando sacos de tecido não-tecido (TNT). Os saquinhos de TNT foram incubados em dois rúmens de novilhos fistulados adaptados a uma dieta similar utilizada neste experimento por 12 dias. Após 288 h, os saquinhos foram retirados do rúmen, lavados em água corrente e analisados quanto à concentração de fibra em detergente neutro (Método INCT CA-F 009/1), descrito por Detmann et al. (2012). A alfa-amilase termoestável (Mertens 2002) foi utilizada na determinação de FDN.

Entre os dias 12 a 14 de cada período experimental, amostras de digesta reticular foram coletadas a cada 9 h, iniciando às 10h do dia 12 (750 mL, n = 8 por local) (Krizsan et al., 2010), com auxílio de bombas de vácuo. A digesta coletada foi armazenada a -20°C para posterior análise laboratorial. Ao final de cada período experimental, essas amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e filtradas em filtro de nylon de 100 µm com poros cobrindo 44% da superfície (Sefar Nitex 100/44, Sefar, Thal, Suíça). Posteriormente, foram pré-secas em estufa de ventilação forçada (55°C por 72 h) e moídos em moinho Willey com peneiras de 1 e 2-mm.

3.9 Metabólitos sanguíneos e hemograma completo

No dia 20 de cada período experimental, amostras de sangue (10 mL) foram coletadas por punção venosa da veia coccígea em tubos Vacutainers® às 10:00 h após a alimentação. Imediatamente após a coleta de sangue, os tubos foram centrifugados (1800 x g por 15 min em temperatura ambiente), o soro foi coletado, transferido para tubos Eppendorf® e armazenados a -20°C. As concentrações séricas de proteína total,

albumina, ureia, glicose, aspartato-aminotransferase e gama-glutamyltransferase foram analisadas por métodos colorimétricos com kits comerciais.

Além das concentrações de metabólitos sanguíneos, após a coleta do sangue foi obtido o plasma dos animais, que será acondicionado em caixas térmicas resfriadas e enviadas para o laboratório a avaliação dos hemogramas completos (contagens diferenciais das células vermelhas – eritrograma, e brancas - leucograma).

O eritrograma foi avaliado através da contagem do número de eritrócitos, conteúdo de hemoglobina e hematócrito. foram ainda realizados os cálculos dos índices hematimétricos absolutos utilizando-se o volume corpuscular médio (VCM; método do micro-hematócrito), a concentração média de hemoglobina (CHM) e a concentração corpuscular média de hemoglobina (CHCM; método colorimétrico cianometemoglobina).

Além disso, a contagem diferencial de leucócitos foi determinada pela contagem de leucócitos, eosinófilos, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos e plaquetas pelo método de coloração de May-Grunwald-Giemsa (Rosenfeld, 1947).

3.10 Balanço de energia

O consumo de energia líquida (CEL), os valores de energia líquida de ganho (ELg) e mudança de peso de corpo vazio (MPCV) foram calculados de acordo com as equações do NASEM (2016), a seguir: $CEL \text{ (Mcal/dia)} = 0,703 \times EM \text{ (consumo)} - 0,19 + \{[(0,097 \times EM \text{ (consumo)} + 0,19)/97] \times [EE - 3]\}$; $EM \text{ (consumo)} = 1,01 \times (ED \text{ (consumo)} - 0,45) + 0,0046 \times (EE - 3)$ onde: EM = energia metabolizável; EE = extrato etéreo; ED = energia digestível. Os valores de energia metabolizável (EM) foram obtidos pela seguinte fórmula: $EM \text{ (Mcal/Kg)} = [1,01 * \{(\%CNF/100) * 4,2 + (\%FDN/100) * 4,2 + (\%PB/100) * 5,6 + (\%AG/100) * 9,4 - 0,3\} - 0,45] + 0,0046 * (EE - 3,0)$. A mudança de peso de corpo vazio (MPCV) foi calculada a partir do peso vivo (PV) onde: $PCV = 0,81 * PV$.

A energia líquida de ganho foi calculada através da fórmula: $ELg = EL \text{ (consumo)} - EL \text{ (manutenção)}$ onde $EL \text{ (manutenção)} = (0,07) * (PV * 0,85)^{0,75}$. A eficiência de utilização de energia para ganho de peso foi estimada a partir da relação entre os teores

de energia líquida de ganho em função da EM da dieta, segundo Harvatine e Allen (1980).

3.11 Análises estatísticas

Todos os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS (versão 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC). Hematologias, bioquímica sanguínea, DMG, PC e volume ruminal, os dados foram analisados por ANOVA quadrado latino. O modelo utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + B(S)_{ij} + P_k + T_l + e_{ijkl}$$

Onde Y_{ijkl} = variável dependente, μ = média geral, S_i = quadrado, $B(S)_{ij}$ = touro dentro do quadrado, P_k = k-ésimo período e T_l = l-ésimo tratamento com o termo de erro e_{ijkl} . Quadrado e touro dentro de quadrado foram efeitos aleatórios e todos os outros foram corrigidos. Os dados de fermentação ruminal (pH), frequência cardíaca (FC) e temperatura retal (TR) foram analisados como medidas repetidas assumindo uma estrutura de covariância AR(1). O modelo utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ijklm} = \mu + S_i + B(S)_{ij} + P_k + T_l + D_m + TDl_m + e_{ijklm}$$

onde Y_{ijklm} = variável dependente, μ = média geral, S_i = quadrado, $B(S)_{ij}$ = touro dentro do quadrado, P_k = k-ésimo período, T_l = l-ésimo tratamento, D_m = efeito de tempo e TDl_m = tratamento \times tempo de interação de amostragem, com o termo de erro e_{ijklm} . Quadrado e touro dentro de quadrado foram efeitos aleatórios e todos os outros foram corrigidos.

Os dados foram testados quanto à normalidade usando o procedimento UNIVARIATE do SAS. Os dados transformados em log foram analisados quando a estatística W do teste de Shapiro-Wilk foi inferior a 0,05. Contrastes ortogonais foram utilizados para avaliar os tratamentos com CAP versus efeitos controle, lineares e quadráticos da suplementação com CAP. As diferenças estatísticas foram consideradas significativas em $P \leq 0,05$ e tendências em $0,05 < P \leq 0,10$.

4. RESULTADOS

4.1 Consumo e digestibilidade de nutrientes e desempenho

Não houve efeito da suplementação de pimenta encapsulada na ingestão de nutrientes (Tabela 2), produção de metano. Os novilhos alimentados com pimenta encapsulada apresentaram tendência a aumentar a digestibilidade da matéria seca ($P = 0,066$), matéria orgânica ($P = 0,054$) e proteína bruta ($P = 0,081$). Além disso, a adição de pimenta encapsulada aumentou linearmente a digestibilidade da FDN ($P=0,007$) em relação ao grupo controle.

Tabela 3. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) sobre o consumo e digestibilidade em novilhos

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	<i>P-Valor</i> ³		
	Control	CAP150	CAP300	CAP450		Con vs T	L	Q
PC (kg)	280,2	277,1	280,7	277,8	6,92	0,415	0,656	0,943
VMP (kg/dia)	0,966	0,803	0,888	0,811	0,08	0,310	0,449	0,695
FC (Beat/min) ⁴	76,80	75,70	79,40	78,30	1,65	0,732	0,471	0,999
TR (°C) ⁴	38,93	39,01	38,85	38,98	0,09	0,893	0,983	0,888
Consumo(kg/dia)								
MS	4,50	4,68	4,54	4,63	0,09	0,492	0,709	0,696
Pasto	3,25	3,23	3,29	3,38	0,09	0,490	0,708	0,695
MO	4,10	4,27	4,13	4,21	0,09	0,495	0,719	0,701
PB	0,65	0,66	0,66	0,67	0,02	0,356	0,775	0,377
FDN	2,49	2,43	2,40	2,56	0,07	0,532	0,708	0,744
EE	0,19	0,21	0,19	0,20	0,01	0,614	0,790	0,852
CNF	1,24	1,26	1,26	1,27	0,02	0,352	0,708	0,394
NDT	2,92	2,99	2,94	3,01	0,06	0,499	0,713	0,766
MS (% PC)	1,6	1,6	1,6	1,6	0,04	0,400	0,666	0,629
Pasto (% do PC)	1,1	1,1	1,1	1,2	0,03	0,422	0,637	0,648
Digestibilidade (%)								
MS	59,9	60,8	61,7	62,7	0,59	0,066	0,570	0,042
MO	62,2	62,9	64,0	64,9	0,57	0,054	0,585	0,027
PB	70,4	70,8	71,7	72,7	0,97	0,081	0,470	0,064
FDN	57,5	58,2	59,9	61,2	0,46	0,007	0,353	0,002
EE	44,6	49,4	46,2	48,9	2,03	0,429	0,766	0,801
CNF	65,4	65,7	66,5	66,9	1,09	0,519	0,900	0,391
NDT	63,4	64,1	64,9	65,9	0,80	0,127	0,641	0,092

¹ Controle = 0 mg/d de CAP150 = 150 mg/d de CAP300 = 300 mg/d de CAP450 = 450 mg/d de CAP. ² maior SEM mostrado; n = 64 para as variáveis FCE e TR; n = 32 para todas demais variáveis (n representa o número de observações usadas na análise estatística). ³Con vs. T = controle vs. tratamento; L = efeito linear de CAP; Q = efeito quadratic de CAP.

Houve efeito quadrático para digestibilidade da matéria seca ($P = 0,042$), matéria orgânica ($P = 0,027$) e FDN ($P = 0,002$) e tendência de efeito quadrático para digestibilidade da proteína bruta ($P = 0,064$). A pimenta encapsulada não impactou na digestibilidade do extrato etéreo, CNF e na variação de peso diária (VMP) kg/dia.

4.2 Fermentação ruminal e parâmetros de saúde

A pimenta encapsulada proporcionou tendência de aumento do pH ruminal ($P=0,081$) em comparação ao grupo controle independente da dose utilizada (Fig. 1 e Fig. 2; Tabela 4). Além disso, a adição de pimenta encapsulada resultou num aumento linear do pH ruminal com as doses utilizadas ($P=0,011$). Houve efeito de tempo para os valores de pH, FC e TR (Fig. 3 e Fig. 4). Os animais alimentados com pimenta encapsulada tenderam ($P=0,079$) a aumentar o total de AGV mmol/L em comparação com o controle. Houve tendência de aumento linear nas concentrações de propionato mM para animais alimentados com pimenta encapsulada ($P=0,086$) e efeito quadrático para concentrações de butirato mM e mmol/100 mmol ($P= 0,036$; $P = 0,022$). Houve efeito de tempo para as concentrações de propionato (Fig. 5), butirato e proporção C2:C3, e efeitos de interações entre tratamento e tempo para propionato e proporção C2:C3. Não houve efeito da suplementação de pimenta encapsulada na produção de metano.

Tabela 4. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) na dieta sobre o pH ruminal, frequência cardíaca, temperatura retal e produção de AGV em novilhos.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	<i>P</i> -valor ³				
	Control	CAP150	CAP300	CAP450		Con vs T	L	Q	Time	Time vs Tr
pH	6,43	6,47	6,50	6,57	0,02	0,081	0,011	0,671	<0,001	0,982
FC (bat/min)	76,8	75,7	79,4	78,3	0,85	0,493	0,148	0,999	0,039	0,953
TR (°C)	38,94	39,00	38,85	38,97	0,04	0,917	0,893	0,673	0,027	0,999
Total AGV (mmol/L)	50,5	52,8	49,9	49,2	0,66	0,903	0,185	0,192	0,079	0,746
AGV (mM) ^e										
Acetato (C2)	34,4	35,0	33,8	33,6	0,44	0,983	0,165	0,243	0,135	0,691
Propionato (C3)	8,3	8,9	8,2	8,2	0,13	<0,001	0,086	0,230	<0,001	<0,001
Butirato (C4)	7,7	8,1	7,9	7,4	0,11	0,800	0,175	0,036	0,001	0,908
C2:C3 relação ^f	4,2	4,1	4,2	4,1	0,03	0,241	0,638	0,999	<0,001	<0,001
AGV (mmol/100 mmol) ^e										
Acetato (C2)	68,2	68,1	67,9	68,2	0,11	0,270	0,705	0,076	<0,001	0,887
Propionato (C3)	16,4	16,7	16,3	16,7	0,09	0,638	0,698	0,696	0,142	0,026
Butirato (C4)	15,3	15,3	15,8	15,1	0,10	0,649	0,908	0,022	<0,001	0,930
C2:C3 relação ^f	4,2	4,1	4,2	4,1	0,03	0,241	0,638	0,999	<0,001	<0,001
CH ₄ (mmol/L)	16,3	17,0	16,1	15,8	0,20	0,988	0,144	0,161	0,130	0,722

¹ Controle = 0 mg/d de CAP150 = 150 mg/d de CAP300 = 300 mg/d de CAP450 = 450 mg/d de CAP. ² maior SEM mostrado; n = 64 para as variáveis FC e TR; n = 32 para todas demais variáveis (n representa o número de observações usadas na análise estatística). ³ Con vs. T = controle vs. tratamento; L = efeito linear de CAP; Q = efeito quadratic de CAP.

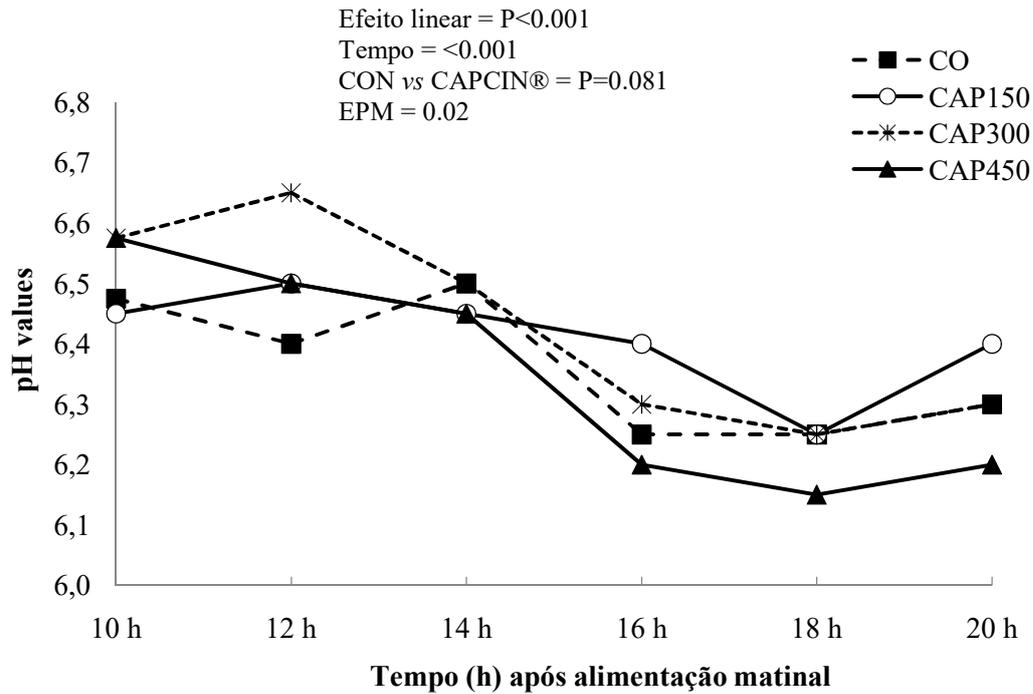


Fig. 1. pH ruminal de novilhos alimentados com diferentes doses de extrato de Capsaicina (CAP), CON = 0 mg/d; CAP150 = 150 mg/d of CAP300 = 300 mg/d of CAP450 = 450 mg/d de CAP. Erro padrão da média (SEM). Amostra de fluido do rumen eram coletadas nos dias 16, 17 e 18 de cada period experimental nos tempos 0, 2, 4, 6, 8 e 10 h após suplementação.

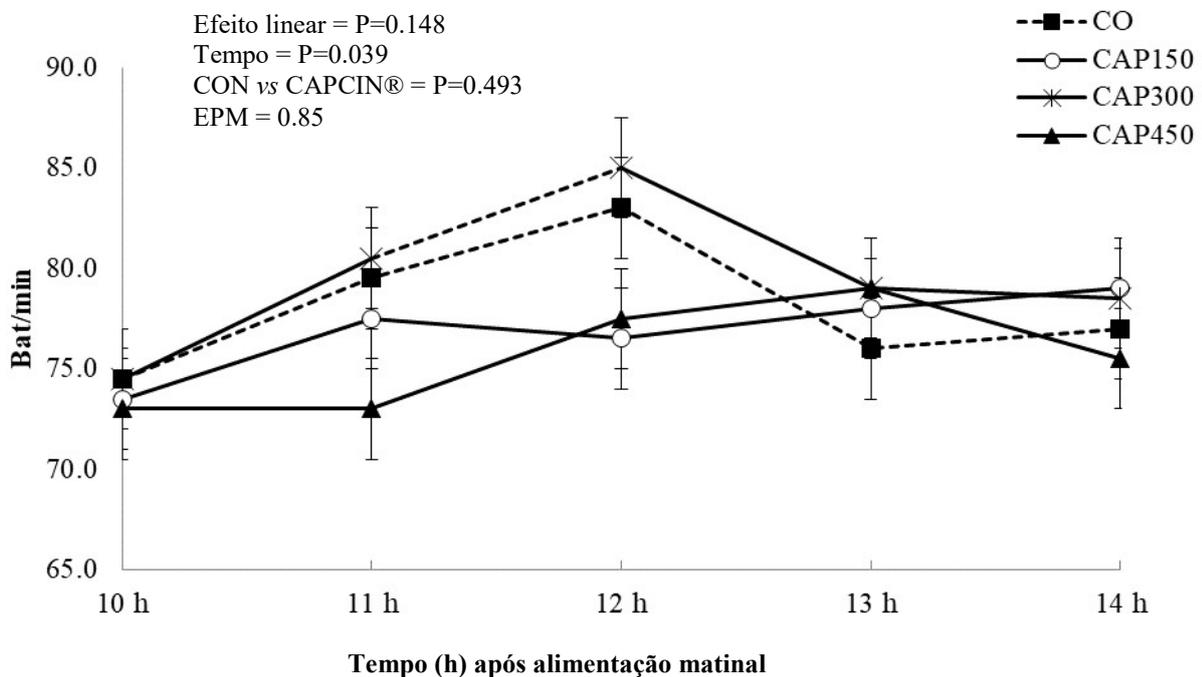


Fig.2. Frequência cardíaca denovilhos alimentados com diferentes doses de extrato de Capsaicina (CAP), CON = 0 mg/d; CAP150 = 150 mg/d of CAP300 = 300 mg/d of CAP450 = 450 mg/d de CAP. Erro padrão da média (EPM). Aferições de frequência cardiac e temperature retal eram realizadas no dia 10 de cada period aos tempos de 0, 1, 2, 3 e 4 h após suplementação.

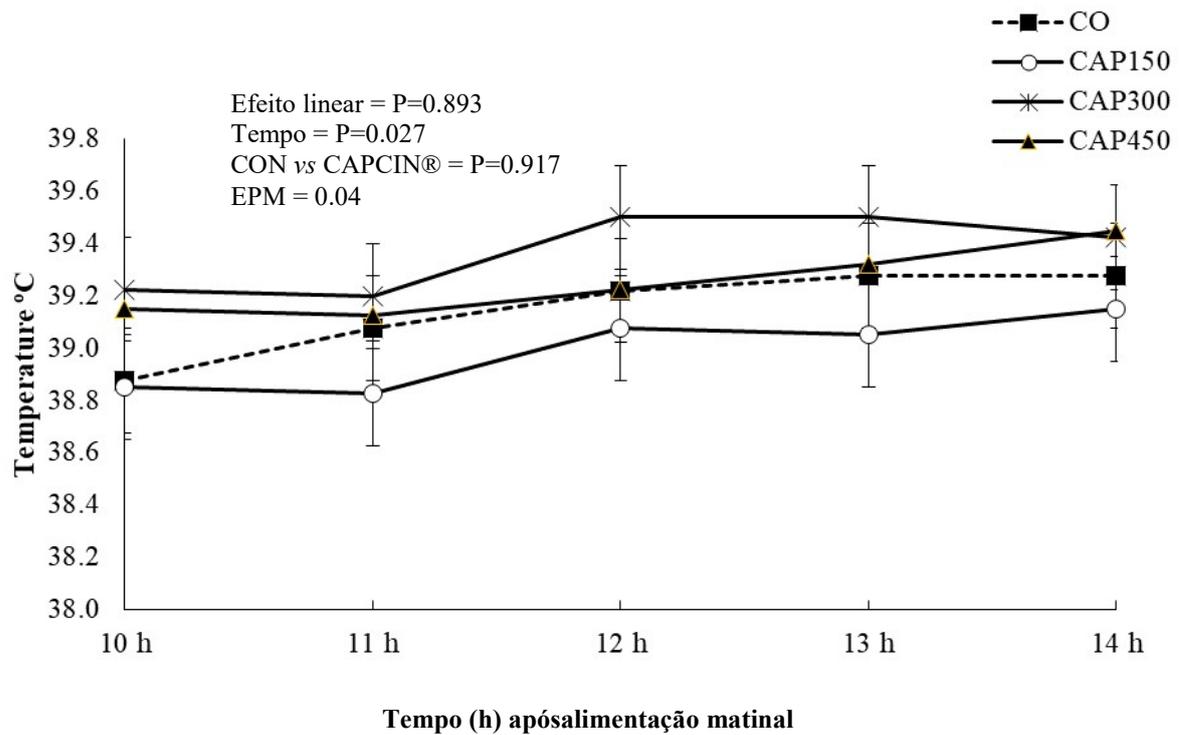


Fig.3. Temperatura retal de novilhos alimentados com diferentes doses de extrato de Capsaicina (CAP), CON = 0 mg/d; CAP150 = 150 mg/d or CAP300 = 300 mg/d or CAP450 = 450 mg/d de CAP. Erro padrão da média (EPM). Aferições de frequência cardíaca e temperatura retal eram realizadas no dia 10 de cada período aos tempos de 0, 1, 2, 3 e 4 h após suplementação.

4.3 Balanço de nitrogênio, síntese de proteínas microbianas e metabólitos sanguíneos

A pimenta encapsulada não alterou a síntese de proteínas microbianas e metabólitos sanguíneos séricos (Tabela 5). Entretanto, influenciou de forma quadrática ($P=0,49$) o balanço de nitrogênio (g/ 100g). Novilhos alimentados com pimenta encapsulada tenderam a diminuir a excreção de nitrogênio nas fezes em comparação ao grupo controle ($P=0,081$) e tiveram efeito quadrático na excreção de nitrogênio nas fezes ($P=0,064$).

Tabela 5. Efeito do extrato de Capsaicina (CAP) na dieta sobre a síntese de proteína microbiana em novilhos.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	<i>P</i> -valor ³		
	Control	CAP150	CAP300	CAP450		Con vs T	L	Q
Alantoina								
Mmol/dia	50,95	52,89	60,95	53,85	3,36	0,584	0,632	0,564
Mmol	8,97	8,71	8,52	8,97	0,32	0,602	0,917	0,365
Ácidoúrico								
Mmol/dia	17,35	19,53	20,49	15,97	1,43	0,658	0,782	0,202
Mmol	3,10	3,00	2,58	2,88	0,16	0,329	0,330	0,414
Purinasabsorvidas (Mmol/dia)	67,45	72,50	83,10	69,38	5,15	0,588	0,761	0,438
Purinastotais (Mmol/dia)	68,30	72,42	81,44	69,82	4,28	0,593	0,764	0,439
Nitrogênio microbiano (g N/dia)	42,45	45,63	52,30	43,67	3,24	0,588	0,761	0,438
Proteínamicrobiana (g/dia)	265,34	285,18	326,89	272,91	20,25	0,588	0,761	0,438
Consumo de N	105,3	106,9	107,0	108,3	2,45	0,356	0,775	0,377
Excreção N urina, %	36,3	35,0	35,3	35,8	1,67	0,778	0,394	0,838
Excreção N fezes, %	29,6	29,2	28,3	27,3	0,97	0,081	0,470	0,064
Balanço de N (%)	34,1	35,7	36,5	37,0	2,07	0,134	0,994	0,049
Glicose, mg/dL	70,7	67,4	68,2	72,3	1,83	0,777	0,772	0,391
Ureia, mg/dL	24,3	25,8	23,7	26,1	0,95	0,633	0,658	0,819
Creatinina, mg/dL	0,775	0,787	0,675	0,750	0,02	0,456	0,338	0,473
PT, g/dL	7,4	7,2	7,4	7,4	0,11	0,747	0,855	0,683
Albumina, g/dL	2,4	2,3	2,4	2,4	0,049	0,908	0,656	0,467
AST, U/L	66,9	68,3	64,8	67,4	2,54	0,995	0,902	0,879

¹ Controle = 0 mg/d; CAP150 = 150 mg/d; CAP300 = 300 mg/d; CAP450 = 450 mg/d de CAP. ² maior EPM mostrado; n = 64 para as variáveis FC e TR; n = 32 para todas as demais variáveis (n representa o número de observações utilizadas na análise estatística). ³Con vs. T = controle vs. tratamento; L = efeito linear da CAP; Q = efeito quadratic da CAP.

4.4 Hemograma

Os novilhos alimentados com pimenta encapsulada apresentaram aumento de linfócitos (103/ μ L) (P=0,007), eosinófilos (103/ μ L) (P=0,002) e eosinófilos (%) (P=0,047) e apresentaram tendência ao aumento de glóbulos brancos (P = 0,062) em comparação com novilhos alimentados com tratamento controle (Tabela 3). Houve aumento linear com as doses de pimenta encapsulada para eosinófilos (103/ μ L) (P=0,043) e % (P =0,007) e hematócrito (P = 0,030) e tendência ao efeito quadrático de linfócitos (103/ μ L) (P=0,055).

Tabela 6. Efeito do extrato de Capsaicina (CAP) na dieta sobre a contagem de células sanguíneas em novilhos.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-valor ³		
	Control	CAP150	CAP300	CAP450		Con vs T	L	Q
Glóbulosbrancos, 10 ³ /μL	10,18	11,26	11,48	11,09	0,31	0,062	0,182	0,144
Neutrófilos	3,14	3,04	3,57	2,95	0,31	0,923	0,970	0,469
Linfócitos	5,72	6,59	6,36	6,38	0,22	0,007	0,074	0,055
Monócitos	0,368	0,393	0,390	0,393	0,03	0,680	0,749	0,824
Eosinófilos	0,404	0,559	0,575	0,584	0,04	0,002	0,007	0,091
Basófilos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total, %								
Neutrófilos	30,85	27,91	30,94	27,88	2,23	0,406	0,062	0,975
Linfócitos	60,79	62,99	60,14	62,69	2,08	0,572	0,717	0,921
Monócitos	4,01	3,88	3,55	3,71	0,34	0,654	0,628	0,805
Eosinófilos	4,35	5,21	5,37	5,72	0,43	0,047	0,043	0,572
Basófilos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Neutrófilos:linfócitos	0,57	0,40	0,60	0,50	0,06	0,516	0,621	0,761
Glóbulosvermelhos, 10 ⁶ /μL	5,99	5,92	6,25	6,10	0,10	0,487	0,233	0,768
Hemoglobina, g/dL	8,78	8,68	8,77	8,99	0,21	0,851	0,280	0,276
Hematócritos, %	24,44	24,31	24,88	25,25	0,38	0,268	0,030	0,931
VCM, %	42,22	40,69	42,12	41,00	0,75	0,286	0,513	0,790
CMHC, %	36,19	36,03	36,30	36,47	0,24	0,719	0,202	0,401
Plaquetas, 10 ³ /μL	264,50	165,88	245,25	265,31	35,90	0,387	0,637	0,137

¹ Controle = 0 mg/d; CAP150 = 150 mg/d; CAP300 = 300 mg/d; CAP450 = 450 mg/d de CAP. ² maior EPM mostrado; n = 64 para as variáveisFCe TR; n = 32 para todas as demais variáveis (n representa o número de observações utilizadas na análise estatística). ³Con vs. T = controle vs. tratamento; L = efeito linear da CAP; Q = efeito quadratic da CAP. VCM = Volume corpuscular médio.; CMHC = Concentração media de hemoglobin corpuscular.

4.5 Balanço de energia

Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos e a dieta controle para consume, produção ou balance de energia. O consumo de energia líquida, digestível e metabolizável foi igual para todos os grupos experimentais (Tabela 8.).

Tabela 7. Efeito do extrato de Capsaicina (CAP) sobre o balanço de energia em novilhos.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-valor ³		
	Control	CAP150	CAP300	CAP450		Con vs T	L	Q
Consumo								
EL (Mcal /kg)	6,5	6,7	6,6	6,7	0,13	0,4961	0,7182	0,7789
ED (Mcal/kg)	12,9	13,2	13,0	13,2	0,26	0,4999	0,7130	0,7669
EM (Mcal/kg)	10,6	10,8	10,6	10,9	0,21	0,4999	0,7130	0,7669
Produção								
Elg (Mcal/kg)	3,9	4,1	4,0	4,1	0,12	0,4946	0,7215	0,8022
Balanço de Energia								
EL (Mcal/dia)	2,6	2,6	2,6	2,6	0,03	0,9187	0,8923	0,6246
Eficiência (Elg/CED)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,01	0,3626	0,6085	0,5307

¹ Controle = 0 mg/d; CAP150 = 150 mg/d; CAP300 = 300 mg/d; CAP450 = 450 mg/d de CAP. ² maior EPM mostrado; n = 64 para as variáveis FC e TR; n = 32 para todas as demais variáveis (n representa o número de observações utilizadas na análise estatística). ³Con vs. T = controle vs. tratamento; L = efeito linear da CAP; Q = efeito quadratic da CAP.

4.6 Cinética ruminal

Houve efeito quadratico para o volume ruminal em litros (P=0,047). Os novilhos alimentados com pimento encapsulado apresentaram uma tendência linear (P=0,067) ter uma menor digestibilidade relativa da material orgânica (g/Kg). A digestibilidade ruminal do FDN foi menor para novilhos que receberam os tratamentos com CAP (P=0,023) de forma linear (P=0,015). O mesmo pode ser observado para a digestibilidade ruminal relativa do FDNtd (P=0,032; P=0,024). Em contrapartida a digestibilidade ruminal absoluta do FDNtd foi maior para os novilhos que receberam os tratamentos com CAP (P=0,028; P=0,020).

Os novilhos que foram alimentados com a pimento encapsulado apresentam uma maior taxa de passage (P=0,011) que os novilhos mantidos na dieta controle, apresentando um efeito linear do aumento da taxa de passage (P=0,021). Houve uma tendência linear dos novilhos alimentados com CAP ter maior taxa de turnover (%) (P=0,050; P=0,089) do que os novilhos alimentados com a dieta controle.

Tabela 8. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) na dieta sobre a digestibilidade e fluxo reticular de nutrientes e taxa de digestão em novilhos

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-valor ³		
	CON	CAP150	CAP300	CAP450		Con vs T	L	Q
Volume ruminal (Litros)	46,25	45,63	43,13	48,75	2,07	0,783	0,406	0,047
Pool Ruminal(kg de MU ⁴)	42,13	41,95	40,53	42,20	1,61	0,703	0,834	0,479
Pool ruminal (kg)								
MS ⁵	5,20	4,60	4,55	4,53	0,26	0,119	0,180	0,382
MO ⁶	8,95	8,28	8,63	8,13	0,33	0,517	0,556	0,917
NDF ⁷	2,89	2,87	2,80	3,11	0,18	0,846	0,458	0,370
FDN _{td} ⁸	2,19	2,22	2,07	2,37	0,16	0,851	0,498	0,308
Digestibilidade ruminal (MS)								
Relativa (g/kg)	601,0	605,2	619,8	624,7	7,71	0,266	0,126	0,977
Digestibilidade ruminal (MO)								
Relativa (g/kg)	604,6	585,4	555,2	575,6	15,95	0,053	0,067	0,142
Absoluta (kg/day)	1,65	1,76	1,90	1,65	0,09	0,152	0,224	0,219
Digestibilidade ruminal (FDN)								
Relativa (g/kg)	449,6	422,9	380,2	391,2	14,84	0,023	0,015	0,277
Absoluta (kg/ day)	1,34	1,43	1,56	1,49	0,07	0,109	0,117	0,310
Digestibilidade ruminal (FDN _{td})								
Relativa (g/kg)	756,7	714,2	644,3	666,2	20,35	0,032	0,024	0,281
Absoluta (kg/day)	0,35	0,42	0,52	0,49	0,03	0,028	0,020	0,271
Fluxoreticular(kg/ day)								
MS ⁵	2,26	2,40	2,48	2,34	0,12	0,545	0,701	0,489
MO ⁶	1,65	1,76	1,90	1,78	0,09	0,152	0,224	0,219
FDN ⁷	1,34	1,43	1,56	1,49	0,07	0,109	0,117	0,306

¹ Controle = 0 mg/d; CAP150 = 150 mg/d; CAP300 = 300 mg/d; CAP450 = 450 mg/d de CAP. ² maior EPM mostrado ³Con vs. T = controle vs. tratamento; ; L = efeito linear da CAP; Q = efeito quadratic da CAP. ⁴ Matéria úmida. ⁵Matéria Seca, ⁶Matéria Organica, ⁷Fibra em Detergente neutro, ⁸Fibra em Detergente Neutro potencialmente digestível.

Tabela 9. Efeito do extrato de capsaicina (CAP) na dieta sobre a cinética ruminal de nutrientes e taxa de digestão em novilhos.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-valor ³		
	CON	CAP150	CAP300	CAP450		Con vs T	L	Q
Taxa de digestão ruminal (%/h)								
MS ⁴	0,81	0,90	0,84	0,89	0,03	0,263	0,448	0,678
MO ⁵	0,12	0,11	0,10	0,10	0,01	0,107	0,124	0,333
FDN ⁶	0,08	0,07	0,07	0,06	0,01	0,071	0,059	0,622
FDN _{td} ⁷	0,34	0,30	0,26	0,25	0,02	0,088	0,062	0,666
Taxa de turnover(%/h)								
MS ⁴	1,54	1,77	1,78	1,80	0,05	0,050	0,089	0,263
MO ⁵	0,24	0,23	0,23	0,23	0,07	0,536	0,571	0,794
FDN ⁶	0,19	0,17	0,17	0,16	0,01	0,191	0,180	0,896
FDN _{td} ⁷	0,45	0,42	0,40	0,38	0,03	0,222	0,158	0,901
Taxa de passagem(%/h)								
MS ⁴	0,73	0,88	0,94	0,91	0,05	0,011	0,021	0,113
MO ⁵	0,12	0,13	0,13	0,13	0,01	0,507	0,510	0,596
FDN ⁶	0,10	0,10	0,11	0,10	0,01	0,614	0,645	0,806
FDN _{td} ⁷	0,11	0,12	0,13	0,13	0,01	0,277	0,303	0,479

¹ Controle = 0 mg/d; CAP150 = 150 mg/d; CAP300 = 300 mg/d; CAP450 = 450 mg/d de CAP.

² maior EPM mostrado ³Con vs. T = controle vs. tratamento; ; L = efeito linear da CAP; Q = efeito quadratic da CAP. ⁴ Matéria úmida. ⁵ Matéria Seca, ⁶ Matéria Organica, ⁷ Fibra em Detergente neutro, ⁸ Fibra em Detergente Neutro potencialmente digestível.

5. DISCUSSÃO

5.1 Consumo e Digestibilidade de nutrientes

Foi observado aumento na digestibilidade do FDN (P=0,007) nos novilhos alimentados com dietas que tiveram inclusão de pimenta encapsulada em relação aos animais na dieta controle. A inclusão de pimenta encapsulada no presente estudo, resultou em tendência a se manter maiores valores de pH (P=0,081) em relação aos animais na dieta controle, apresentando um efeito linear na manutenção de valores maiores de pH à medida em que se aumenta os níveis de inclusão de pimenta encapsulada, efeito provavelmente resultante de um maior efeito tampão causado pelo aumento de salivacão em virtude do efeito pungente da capsaicina. Esse efeito pode estar relacionado com o aumento da digestibilidade do FDN uma vez que valores mais altos de pH tendem a favorecer a aderência dos microrganismos às partículas de

alimento no rumen aumentando sua eficácia na degradação da fibra, uma vez que em estudos realizados *in vitro* (HADDAD; GRANT, 2000; GRANT; MERTENS, 1992) demonstraram limitação da digestibilidade da fibra à medida que pH se aproxima de 6,0. Efeitos negativos na digestão da fibra relacionado a valores mais baixos de pH também foram constatados por Russel e Wilson (1996). Deste é possível deduzir que a manutenção de valores maiores de pH proporcionado pela inclusão de pimenta encapsulada podem ter favorecido o aumento da digestibilidade do FDN.

Observou-se também uma tendência de aumento da digestibilidade da matéria seca ($P=0,066$) nos novilhos que tiveram inclusão de pimenta encapsulada na dieta em relação aos animais na dieta controle. Essa tendência de aumento de digestibilidade pode ser explicado pela tendência de aumento da digestibilidade de proteína bruta ($P=0.081$), que pode estar relacionado ao efeito precursor de de enzimas como tripsina e quimiotripsina relatados por Platel e Srinivasan (1996;2000) em estudos realizados com ratos, juntamente com o aumento da digestibilidade do FDN. Efeitos de melhoria na digestibilidade de nutrientes também foram observados por Oh et al. (2015).

A inclusão de capsaicina na dieta dos novilhos a pasto não influenciou no consumo total de material seca ($P = 0.492$).Esses resultados diferem da confirmação em estudo realizado por Rodríguez-Prado et al. (2012) que observaram que o uso da inclusão de 125, 250 e 500 mg / dia / animal de oleoresina de capsicum padronizada com 6% de capsaicina e di-hidrocapsaicina, resultaram em maior consumo de água, seguido por um aumento do consumo de alimentos, atribuídos à propriedade pungente da capsaicina (Calsamiglia et al., 2007). Contudo, os animais que tiveram a pimenta encapsulada incluída na dieta, não tiveram redução do consumo de MS e apresentaram melhoria na digestibilidades dos componetes da dieta, além de demonstrarem uma variação positiva no peso corporal ao longo dos períodos experimentais.

5.2 Fermentação ruminal, frequência cardíaca e temperature retal

Houve um efeito linear para os valores de pH ruminal. Os novilhos tenderam a apresentar maiores médias de valores de pH ruminal à medida em que se umentava

os níveis de inclusão de pimento encapsulada na dieta. É possível atribuir estes valores ao efeito de pungência proporcionado pela capsaicina resultando em maior salivação desses animais e conseqüentemente proporcionando maior efeito tampão no ambiente ruminal. A saliva dos bovinos é conhecida pelo seu potencial tamponante devido a sua composição contendo principalmente fosfato e bicarbonato, contendo pH em torno de 8,2 (KAUFMANN et al. 1980; RIBEIRO e GOBETTI, 2018) o que explica o seu potencial em regular o pH do ambiente ruminal. Sendo assim, ainda que não tenha sido avaliado, é possível atribuir esses valores de pH à uma maior salivação em decorrência do efeito pungente da capsaicina. Ainda que a taxa de salivação não tenha sido mensurada diretamente, essa teoria do aumento de salivação devido ao efeito de pungência pode ser reforçado ao se observar a Figura 1., que demonstra que no tempo de 10h, quando foi fornecido o concentrado juntamente com o tratamento, nessa primeira medição, os tratamentos com maiores níveis (300mg e 450mg) apresentaram os maiores valores de pH, por volta de 6,6, à medida que a dose de 150mg e o tratamento controle mantiveram valores abaixo de 6,5, enquanto que 2h após o fornecimento dos tratamentos, ao contrário do grupo controle, os animais com a inclusão de pimento encapsulada ainda apresentaram maiores níveis de pH com destaque para os animais no tratamento com inclusão de 300mg que apresentaram um pico de pH em torno de 6,7, o que pode reforçar esse maior efeito tampão devido a maior salivação. Um estudo realizado por Ricci et al. (2021), utilizando vacas Holandesas onde foram testados diferentes compostos fitogênicos como moduladores da salivação e composição físico-química da saliva, mostrou o fornecimento de capsaicina foi capaz de aumentar a taxa de salivação nesses animais.

Houve maior produção de propionato para o tratamento CAP150 em relação ao controle e demais tratamentos. Houve também efeito de tempo e tratamento x tempo para as concentrações de propionate. Esses resultados reforçam o possível potencial da capsaicina como um modulador da fermentação ruminal. Oh et al. (2015) ao testar diferentes níveis de inclusão de oleoresina de capsicum na dieta de vacas holandesas em lactação, ao contrário desse estudo, não encontrou diferenças na concentração de propionato entre tratamento e grupo controle. Entretanto Cardozo et al. (2005) testando oleoresina de capsicum in vitro em dois diferentes níveis de pH (7,0 e 5,5) constataram diferenças na produção de ácidos graxos totais e nas concentrações de propionate e acetato onde no pH 7,0 houve uma redução na produção de AGV e propionate à medida em que se aumentava a produção de acetate e em pH

5,5 esse efeito era contrário, sugerindo influência do nível de pH no efeito da capsaicina sobre o desenvolvimento dos microrganismos no rumen e conseqüentemente tendo efeito sobre seus respectivos produtos. Igualmente à produção de propionate, houve efeito de tempo e interação tempo x tratamento sobre a proporção Acetato:Propionato, ocasionada pela mudança na concentração de propionate no ambiente ruminal.

Houve efeito de tempo para a frequência cardíaca e a temperatura retal dos novilhos ($P=0,039$; $P=0,027$ respectivamente) não havendo efeito ou interação do tratamento. A temperatura retal dos animais apresentou uma tendência de aumentar ao longo do tempo de coleta. O aumento da temperatura retal pode ter sido atribuído ao manejo de coleta em conjunto a um possível aumento de temperatura do ambiente durante o período em que a coleta era realizada, contudo, não é possível afirmar com precisão uma vez que não foi realizada uma avaliação da temperatura ambiente durante essas coletas. O mesmo pode ser dito sobre as alterações da frequência cardíaca dos animais que também apresentaram uma tendência de aumento à medida em que se passava o tempo de coleta, de forma semelhante a temperatura retal, provavelmente como resultado do manejo ou como meio de regular a temperatura corporal por aumento da taxa de respiração.

5.3 Balanço de nitrogênio, síntese de proteínas microbianas e metabólitos sanguíneos

No presente estudo, não foram observados efeitos da inclusão da pimenta encapsulada sobre os metabólitos sanguíneos, alantoina ou ácido úrico ($P>0,05$). Esses resultados são semelhantes para os encontrados por Vittorazzi Junior (2022) em um estudo realizado com o uso de oleoresina de *capsicum* na dieta de vacas em lactação. Oh et al. (2015) também não encontraram diferenças para excreção de derivados de purina em vacas suplementadas com 250mg, 500mg e 1000mg / d de oleoresina de *capsicum*, resultado também semelhante ao encontrado no presente estudo, apontando ausência de efeito do uso da pimenta encapsulada sobre a síntese de proteína microbiana.

Os novilhos desse experimento tenderam a apresentar menor excreção de nitrogênio nas fezes à medida em que se aumenta os níveis de inclusão de pimenta encapsulada. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Vittorazzi Junior (2022) e Oh et al. (2013, 2015 e 2017). Seguindo esta tendência, os novilhos desse

experimento alimentados com os diferentes níveis de pimenta encapsulada apresentaram um balanço de nitrogênio significativamente mais positivo em relação aos animais na dieta controle. Apesar de terem consumido a mesma quantidade de nitrogênio da dieta, os novilhos suplementados com CAP apresentaram menor excreção fecal desse nutriente, sugerindo uma melhor digestibilidade desse nutriente ao longo do trato digestivo, o que pode ser explicado pelo efeito precursor de de enzimas como tripsina e quimiotripsina relatados por Platel e Srinivasan (1996;2000) em estudos realizados com ratos, que pode contribuir para uma melhor digestibilidade da proteína tanto da dieta quanto da proveniente da proteína microbiana do rumen e uma vez que não houve diferença entre os tratamentos para a síntese de proteína microbiana, fica mais evidenciado o efeito do aumento da digestibilidade da proteína proporcionado por uma maior produção de enzimas proteolíticas no trato digestivo ocasionado pela suplementação com a pimenta encapsulada.

5.4 Hemograma

Oh et al. (2013) relataram com a infusão abomasal de oleoresina de Capsicum um aumento na proporção de linfócitos no sangue de vacas leiteiras. Em estudos realizados por Oh et al.(2015) também apontaram aumento linear da produção de eosinófilos e neutrófilos, conforme se aumentou a dose de oleoresina de Capsicum. O presente estudo, semelhante a resultados encontrados por Oh et al.(2015), também relatou um aumento na produção de eosinófilos, bem como uma tendência no aumento dos linfócitos em relação aos animais do grupo controle. A quantidade de neutrófilos, diferente dos resultados de Oh et al.(2015), não diferiram do grupo controle.

Pode-se observar uma tendência na maior produção de células brancas nos tratamentos com inclusão de pimento encapsulada em relação ao controle. Esses resultados corroboram com os efeitos de melhoria na resposta imune e atividade anti-inflamatória proporcionado pela capsaicina, que, apesar deste mecanismo não estar totalmente elucidado, alguns estudos relacionam esse efeito da capsaicina com a sua alta especificidade com o receptor de potencial transitório vanilóide do tipo 1 (TRPV1) (CATERINA; JULIUS, 2001; MONTELL et al., 2002), receptor que dentre outras, possui função relacionada com processos imunológicos, cuja a ligação possivelmente

resulte num aumento da resposta imunológica (ZANESCO et al., 1999; SZOLCSANYI et al., 2001).

5.5 Dinâmica ruminal

A inclusão da pimenta encapsulada reduziu a digestibilidade ruminal do FDN e FNDtd em relação aos animais no grupo controle, esses resultados podem ser explicados pelo menor tempo de permanência da digesta no ambiente ruminal, ocasionado por maior taxa de passagem de MS apresentada pelos animais que receberam os tratamentos com a pimenta encapsulada. Isso pode ter acontecido devido ao potencial da capsaicina em modular a fermentação ruminal, estabilizando o pH do ambiente ruminal o que favorece uma melhor aderência dos microrganismos à parede das partículas da digesta, resultando numa maior eficiência da degradação dessas partículas e conseqüentemente com a sua redução de tamanho proporcionando maior passagem da digesta ao longo dos compartimentos do rumen. Esse processo pode ter sido favorecido também pelo aumento do consumo de água por parte dos novilhos alimentados com a pimenta encapsulada devido ao efeito pungente da capsaicina. Contudo, os valores para a taxa de passagem, que foram maiores para os animais no tratamento CAP300, diferem dos resultados apresentados na tabela 11, onde mostra um efeito quadrático ($P=0,047$) onde o maior volume ruminal em litros é apresentado para o tratamento CAP450 enquanto os demais tratamentos (CAP150 e CAP300) apresentam menor volume que o controle, logo, isso permite deduzir que esse aumento da taxa de passagem esteja mais relacionado com a redução do tamanho de partículas favorecido pela modulação da fermentação ruminal proporcionada pela inclusão da pimenta encapsulada na dieta dos novilhos.

6. CONCLUSÃO

A inclusão da pimenta encapsulada se mostra eficiente em melhorar a digestibilidade dos nutrientes da dieta, principalmente da proteína e da fibra em

detergente neutro, além de demonstrar efeitos benéficos na melhoria da resposta imune desses animais, bem como apresenta efeitos sobre a população microbiana do rúmen, demonstrando ser uma importante alternativa como um modulador da fermentação ruminal. A inclusão de pimenta encapsulada não tem efeitos sobre o consumo de matéria seca dos animais. Ainda é necessário a realização de mais estudos em torno deste aditivo a fim de chegar a resultados mais conclusivos da sua eficácia e maior conhecimento do seu mecanismo de ação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-SALAM, O. M., R. F. ABDEL-RAHMAN, A. A. SLEEM, FARRAG, A. R. Modulation of lipopolysaccharide-induced oxidative stress by capsaicin. **Inflammopharmacology**, v.20, n.4, p.207-217, 2012.
- ARAUJO, R.C. **Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação in vitro**. 2010. 181 f. Tese (Doutorado em ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, 2010.
- Association of Official Analytical Chemists - AOAC. **Official Methods of Analysis**. (17th ed.). Gaithersburg, MD, USA: Association of Official Analytical Chemists.,
- BARBERO, R. P., MALHEIROS, E. B., ARAÚJO, T. L. R., NAVE, R. L. G., MULLINIKS, J. T., BERCHIELLI, T. T., RUGGIERI, A.C., REIS, R. A. Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v.209, p.110-118, 2015.
- BENCHAAR, C., CALSAMIGLIA, S., CHAVES, A.V., FRASER, G.R., COLOMBATTO D, MCALLISTER, T.A., BEAUCHEMIN, K.A. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.209-228, 2008.
- BERTO, D.A. Levedura seca de destilaria de álcool decano-de-açúcar (*Saccharomyces spp*) na alimentação de leitões em recria. 133f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. 1985
- BOTREL, P. P., PINTO, J. E. B. P., FERAZ, V., BERTOLUCCI, S. K. V., FIGUEIREDO, F. C. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl., Lamiaceae em função da sazonalidade. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 533-538, 2010.
- BROUGHAN, C. Odours, emotions, and cognition—how odours may affect cognitive performance. **International Journal of Aromatherapy**, v. 12, n. 2, p. 92-98, 2002.
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., CARRO, M. D., KAMEL, C. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 12, p. 4393-4404, 2005.

- CALSAMIGLIA, S., BUSQUET, M., CARDOZO, P.W. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.6, p.2580-2595, 2007.
- CARDOZO, P. W., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., KAMEL, C. 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**, v.83, n.11, p.2572-2579, 2005.
- CASALI, A. O., DETMANN, E., VALADARES FILHO, S. D. C., PEREIRA, J. C., HENRIQUES, L. T., FREITAS, S. G. D., PAULINO, M. F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.
- CASTRO, D. M.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M. Composição fitoquímica dos óleos essenciais de folhas da *Lippia alba* (Mill). N.E.Br em diferentes épocas de colheita e partes do ramo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 4, n. 2, p. 75-79, 2002.
- CATERINA, M. J., SCHUMACHER, M. A., TOMINAGA, M., ROSEN, T. A., LEVINE, J. D., JULIUS, D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. **Nature**, v.389, p.816-824, 1997.
- CATERINA, M. J.; JULIUS, D. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Annu Rev Neurosci*, v. 24, p. 487-517, 2001.
- CHAO, S. C.; YOUNG, D. G.; OBERG, C. J. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 5, p. 639-649, 2000.
- CHAVES, A. V., HE, M. L., YANG, W. Z., HRISTOV, A. N., MCALLISTER, T. A., BENCHAAAR, C. Effects of essential oils on proteolytic, deaminative and methanogenic activities of mixed ruminal bacteria. **Canadian Journal of Animal Science**, v.88, n.1, p.117-122, 2008.
- CHEN, X.B., GOMES, M.J., 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. Aberdeen: Rowett Research Institute. 21p. (Occasional Publication).
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; MARTINS, F. H.; MARCONDES, M. I.; FONSECA, M. A.; ARAUJO, A. Excreção de creatinina em novilhos e novilhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. Anais... Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004. CD-ROM
- CONEGLIAN, S.M. **Uso de óleos essenciais de mamona e caju em dietas de bovinos**. 2009. 100f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2009.
- DETMANN, E., SOUZA, M.A., VALADARES FILHO, S.C., QUEIROZ, A.C., BERCHIELLI, T.T., SALIBA, E.O.S., CABRAL, L.S., PINA, D.S., LADEIRA, M.M., AZEVEDO, J.A.G., 2012. **Métodos para análise de alimentos**. INCT – Ciência Animal. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 214p.
- DÓREA, J. R., GOUVÊA, V. N., AGOSTINHO NETO, L. R. D., DA SILVA, S. C., BRINK, G. E., PIRES, A. V., SANTOS, F. A. Beef cattle responses to pre-grazing sward height and low level of energy supplementation on tropical pastures. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 6, p. skaa163, 2020.

- DORMAN, H. J. D., DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, n.2, p.308-316, 2000.
- DUFFIELD T. F., RABIEE A. R., LEAN I. J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *J Dairy Sci.* Apr;91(4):1334-46. 2008
- FANDINO, I., S. CALSAMIGLIA, A. FERRET, AND M. BLANCH. Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. **Animal Feed Science and Technology**, v.45, n.1-4, p.409-417, 2008.
- FOLDAGER, J. Protein requirement and non-protein nitrogen for high producing cow in early lactation. 1977. **Tese (Doutorado)-Michigan State University, East Lansing**, 1977.
- FRANCE, J., SIDDON, R.C. Determination of digesta flow by continuous market infusion. **Journal of Theoretical Biology**, v.121, n.1, p.105-119, 1986.
- FRANCO-PENTEADO, C. F., I. A. DE SOUZA, C. S. LIMA, S. A. TEIXEIRA, M. N. MUSCARA, G. DE NUCCI, ANTUNES, E. Effects of neonatal capsaicin treatment in the neutrophil production, and expression of preprotachykinin-I and tachykinin receptors in the rat bone marrow. **Neuroscience letters**, v.407, n.1, p.70-73, 2006.
- FUJIHARA, T., ØRSKOV, E. R., REEDS, P. J., KYLE, D. J. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **The Journal of Agricultural Science**, v. 109, n. 1, p. 7-12, 1987.
- GARCIA, A.A., CARRIL, E.P-U, *Metabolismo Secundário De Plantas*. **Reduca**, v.2, n.3, p.119-145, 2009.
- GUAN, G., K. M. WITTENBERG, K. H. OMINSKI, AND D. O. KRAUSE. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. *J. Anim. Sci.* 84:1896–1906. 2006.
- HARVATINE, K.J., ALLEN, M.S. Effects of fatty acid supplements on feed intake, and feeding and chewing behavior of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1104–1112, 2006.
- HELANDER, I. M., ALAKOMI, H. L., LATVA-KALA, K., MATTILA-SANDHOLM, T., POL, I., SMID, E. J., VON WRIGHT, A. Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.9, p.3590-3595, 1998.
- HODGSON, J. Ingestive behavior. In: LEAVER, J.D. (Ed.). **Herbage intake handbook**. Wallingford: British Grassland Society, 1982. p.113-138.
- JAMIESON, W. S.; HODGSON, J. The effect of variation in sward characteristics upon the ingestive behavior and herbage intake of calves and lambs under continuous stocking management. **Grass and Forage Science**, v. 34, n. 4, p. 273-281, 1979.
- KARADAS, F., V. PIRGOZLIEV, S. P. ROSE, D. DIMITROV, ODUGUWA, O., BRAVO, D. Dietary essential oils improve the hepatic antioxidative status of broiler chickens. **British Poultry Science**, v.55, n.3, p.329-334, 2014.
- KAUFMANN, W; HAGESMEISTER, H; DIRKSEN, G. Adaptations to changes in dietary composition, level and frequency of feeding. In: RUCKEBUSH, Y; THIVEND, P. (Eds.) *Digestive physiology and metabolism in ruminants*. Wesport: AVI, p. 587, 1980.

- KENWARD, M.G., ROGER, J.H. Small sample inference for fixed effects from restricted maximum likelihood. **Biometrics**, p.983-997, 1997.
- KHORRAMI, B., VAKILI, A.R., MESGARAN, M.D., KLEVENHUSEN, F. Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems. **Animal Feed Science and Technology**, v.200, p.8-16, 2015.
- KIM, J., MARSHALL, M. R., WEI, C. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, n.11, p.2839-2845, 1995.
- KNAPP, J. R., LAUR, G. L., VADAS, P. A., WEISS, W. P., TRICARICO, J. M. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n.6, p.3231-3261, 2014.
- KOBAYASHI, YASUO. "Abatement of Methane Production from Ruminants: Trends in the Manipulation of Rumen Fermentation." Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, vol. 23, no. 3, Asian Australasian Association of Animal Production Societies, 22 Feb. 2010, pp. 410–416. 2010.
- KRIZSAN, S.J., AHVENJÄRVI, S., VOLDEN, H., BRODERICK, G.A. Estimation of rumen outflow in dairy cows fed grass silage-based diets by use of reticular sampling as an alternative to sampling from the omasal canal. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1138–1147, 2010.
- KULASEK, G. A micromethod for determining urea in blood plasma, whole blood and blood corpuscles with the use of urease and phenol reagent. **PolskieArchiwumWeterynaryjne**, v.15, n.4, p.801-810, 1972.
- LEE, C. Y. J., KIM, M., YOON, S. W., LEE, C. H. Short-term control of capsaicin on blood and oxidative stress of rats in vivo. **Phytotherapy Research**, v.17, n.5, p.454-458, 2003.
- LEE, S. H., H. S. LILLEHOJ, S. I. JANG, E. P. LILLEHOJ, W. MIN, AND D. M. BRAVO. Dietary supplementation of young broiler chickens with Capsicum and turmeric oleoresins increases resistance to necrotic enteritis. **British Journal of Nutrition**, v.110, n.5, p.840-847, 2013.
- LEE, S. H., LILLEHOJ, H. S., JANG, S. I., LEE, K. W., BRAVO, D., LILLEHOJ, E. P. Effects of dietary supplementation with phytonutrients on vaccine-stimulated immunity against infection with *Eimeria tenella*. **Veterinary parasitology**, v.181, n.2-4, p.97-105, 2011.
- LIU, Y., SONG, M., CHE, T. M., BRAVO, D., MADDOX, C. W., PETTIGREW, J. E. Effects of capsaicin oleoresin, garlic botanical, and turmeric oleoresin on gene expression profile of ileal mucosa in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.92, n.8, p.3426-3440, 2014.
- LIU, Y., SONG, M., CHE, T. M., BRAVO, D., PETTIGREW, J. E. Anti-inflammatory effects of several plant extracts on porcine alveolar macrophages in vitro. **Journal of Animal Science**, v.90, n.8, p.2774-2783, 2012.
- LIU, Y., SONG, M., CHE, T. M., ALMEIDA, J. A. S., LEE, J. J., BRAVO, D., MADDOX, C.W., PETTIGREW, J. E. Dietary plant extracts alleviate diarrhea and alter immune responses of weaned pigs experimentally infected with a pathogenic *Escherichia coli*. **Journal of Animal Science**, v.91, n.11, p.5294-5306, 2013a.

- LIU, Y., CHE, T. M., SONG, M., LEE, J. J., ALMEIDA, J. A. S., BRAVO, D., VAN ALSTINE, W.G., PETTIGREW, J. E. Dietary plant extracts improve immune responses and growth efficiency of pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. **Journal of Animal Science**, v.91, n.12, p.5668-5679, 2013b.
- MARSIGLIO, B.N. **Óleos funcionais em dieta alto grão para ovinos e efeitos sobre digestibilidade dos nutrientes, desempenho, características da carcaça e do músculo *Longissimusdorsi***. 2012. 90f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2012.
- MARTINEZ, S., MADRID, J., HERNANDEZ, F., MEGIAS, M. D., SOTOMAYOR, J. A., JORDAN, M. J. Effect of thyme essential oils (*Thymus hyemalis* and *Thymus zygis*) and monensin on in vitro ruminal degradation and volatile fatty acid production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.18, p.6598-6602, 2006.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MONTELL, C.; BIRNBAUMER, L.; FLOCKERZI, V. et al. A unified nomenclature for the superfamily of TRP cation channels. *Mol Cell*, v. 9, p. 229-231, 2002.
- MOREIRA, J.V. **Efeitos de extratos alcoólicos de vagem de algaroba sobre os produtos de fermentação ruminal in vitro**. 2014. 64f. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Itapetinga, 2014.
- MOSS, A.R., JOUANY, J.P., NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In: **Annales de zootechnie**. EDP Sciences, 2000. p.231-253.
- NEVES NETO, J.T., **Óleo bruto de *Pterodon emarginatus* Vogel (Sucupira) como modulador da fermentação ruminal em sistema de cultura contínua de duplo fluxo**. 2015. 66 f. Tese de doutorado. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2015.
- NOZELLA, E.F. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes**. 2001. 58f. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2001.
- OBA, M., ALLEN, M.S. Effects of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 184–194, 2003.
- OH, J., HRISTOV, A. N., LEE, C., CASSIDY, T., HEYLER, K., VARGA, G. A., BRAVO, D. Immune and production responses of dairy cows to post-ruminal supplementation with phytonutrients. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.12, p.7830-7843, 2013.
- OH, J., GIALLONGO, F., FREDERICK, T., PATE, J., WALUSIMBI, S., ELIAS, R. J., HRISTOV, A. N. Effects of dietary Capsicum oleoresin on productivity and immune responses in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.6327–6339, 2015.
- OH, J., HARPER, M., GIALLONGO, F., BRAVO, D. M., WALL, E. H., HRISTOV, A. N. Effects of rumen-protected Capsicum oleoresin on productivity and responses to a glucose tolerance test in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.3, p.1888-1901, 2017.

- 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. Official Journal of European Union. Page L268/36 in OJEU *of 10/18/2003*.
- ORELLANA BOERO, P., BALCELLS, J., MARTÍN-ORÚE, S.M., LIANG, J.B., GUADA, J.A. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- OUATTARA, B., SIMARD, R. E., HOLLEY, R. A., PIETTE, G. J. P., BÉGIN, A. ANTIBACTERIAL activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 37, n. 2-3, p. 155-162, 1997.
- PALUDO, A. **Uso de óleo funcional em dietas de ovinos**. 2013. 50f. Dissertação de mestrado. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. Rio Verde, 2013.
- PARK, J. Y., KAWADA, T., HAN, I. S., KIM, B. S., GOTO, T., TAKAHASHI, N., FUSHIKI, T., KURATA, T., YU, R. Capsaicin inhibits the production of tumor necrosis factor α by LPS-stimulated murine macrophages, RAW 264.7: a PPAR γ ligand-like action as a novel mechanism. **FEBS letters**, v. 572, n. 1-3, p. 266-270, 2004.
- PLAIZIER, J. C.; MARTIN, A.; DUFFIELD, T.; BAGG, R.; DICK, P.; MCBRIDE, B. W. Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 12, p. 2918-2925, 2000.
- PROVENZA, F. D., SCOTT, C. B., PHY, T. S., LYNCH, J. J. Preference of sheep for foods varying in flavors and nutrients. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 10, p.2355-2361, 1996.
- REYNAL, S.M., BRODERICK, G.A., BEARZI, C. Comparison of four markers for quantifying microbial protein flow from the rumen of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.4065-4082, 2005.
- RIBEIRO, P. H., GOBETTI, S. T. C. Alimentos tamponantes para bovinos. **Ciência Veterinária UniFil**, [S.l.], v. 1, n. 1, p. 20-32, abr. ISSN 2595-7791. 2018
- RODRÍGUEZ-PRADO, M., FERRET, A., ZWIETEN, J., GONZALEZ, L., BRAVO, D., CALSAMIGLIA, S. Effects of dietary addition of capsicum extract on intake, water consumption, and rumen fermentation of fattening heifers fed a high-concentrate diet. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 6, p. 1879-1884, 2012.
- ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrônicos e estudos de diversos fatores. **Memórias de Instituto Butantã**, v.20, p. 315-328, 1947.
- ROTTA, P.P., VALADARES FILHO, S.C., DETMANN, E., SILVA, L.F.C., PAULINO, M.F., MARCONDES, M.I., LOBO, A.A.G. VILLADIEGO, F.A.C. Digesta sampling sites and marker methods for estimation of ruminal outflow in bulls fed different proportions of corn silage or sugarcane. **Journal of Animal Science**, v.92, p.2996-3006, 2014.
- SANTANA JUNIOR, H. A. DE, SILVA, R. R., CARVALHO, G. G. P., SILVA, F. F., COSTA, P. B., MENDES, F. B. L., PINHEIRO, A. A., SANTANA, E. O. C.,

- ABREU FILHO, G., JÚNIOR, G. T. Metodologias para avaliação do comportamento ingestivo de novilhas suplementadas a pasto. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 3, p. 1475-1485, 2014.
- SILVA, G.G. **Utilização de óleos funcionais associado à enzima amolítica na alimentação de vacas em lactação**. 2017. 112f. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2017.
- SILVA, R. R., SILVA, F. F., PRADO, I. N., CARVALHO, G. G. P., FRANCO, I. L., ALMEIDA, V. S., CARDOSO, C.P., RIBEIRO, M. H. S. Comportamento ingestivo de bovinos. Aspectos metodológicos. **Archivos de Zootecnia**, v. 55, n. 211, p. 293-296, 2006.
- SILVA, C.M.A., Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco-uma inovação no controle de fitopatógenos. 2014. 109f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2014.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **Systems for Windows**. SAS® 9.4. Procedures Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2013.
- SURH, Y. J., CHUN, K. S., CHA, H. H., HAN, S. S., KEOM, Y. S., PARK, K. K., LEE, S. S. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of antiinflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-kappa B activation. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v.480, p.243-268, 2001.
- SZOLCSANYI, J.; OROSZI, G.; NEMETH, J. et al. Functional and biochemical evidence for capsaicin-induced neural endothelin release in isolated working rat heart. *Eur J Pharm*, v. 419, p. 215-21, 2001.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ª ed. – Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.
- TAKANO, F., M. YAMAGUCHI, S. TAKADA, S. SHODA, N. YAHAGI, T. TAKAHASHI, OHTA, T. Capsicum ethanol extracts and capsaicin enhance interleukin-2 and interferon-gamma production in cultured murine Peyer's patch cells ex vivo. **Life Sciences**, v.80, n.17, p.1553-1563, 2007.
- UDÉN, P., COLUCCI, P.E., VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.31, p.625–632, 1980.
- VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B., LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VITTORAZZI JÚNIOR, P. C. V..Capsaicina (Capsicumoleoresin) na dieta de vacas em lactação durante o verão. **Dissertação (Mestrado em Produção e Nutrição Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 2022
- WILDMAN, E.E., JONES, G.M., WAGNER, P.E., BOMAN, R.L., TROUTT, H.F., LESCH, T.N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.495–501, 1982.
- YOSHIOKA, M., MATSUO, T., LIM, K., TREMBLAY, A., SUZUKI, M. Effects of capsaicin on abdominal fat and serum free-fatty acids in exercise-trained rats. **Nutrition Research**, v.20, n.7, p.1041-1045, 2000.
- ZANESCO, A.; COSTA, P. K. S.; RIADO, R. S. et al. Modulation of coronary flow and cardiomyocyte size by sensory fibers. *Hypertension*, v. 34, p. 790-4, 1999.